

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

THESIS

MARBURG

1968

Vergleichende Untersuchungen zur Endotoxinwirkung und Pathophysiologie des Ileus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Günther Brobmann

aus Marburg/Lahn

Marburg 1968

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Vergleichende Untersuchungen zur Endotoxinwirkung und Pathophysiologie des Ileus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Günther Brobmann

aus Marburg/Lahn

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am .30..April..1968

Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert

Referent: Doz. Dr. med. Ch. Herfarth

Correferent: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

1) E I N L E I T U N G

=====

1.1) Allgemeine Einleitung:

FOCK führte 1962 Experimente über Leberveränderungen beim Ileus an Ratten durch (51). Er beobachtete dabei deutliche Veränderungen an der Leberzelle, unter anderem Leberzellnekrose und Abnahme des Leberglykogens. Bei Untersuchungen über Fermente und Substrate beim Ileus wurden eine Leberzellschädigung mit Austritt von Enzymen und Änderungen im Enzymverteilungsmuster der Leber gefunden (HERFARTH und SCHÄFER 1964 (62), STAIB und HERFARTH 1966 (87)). Sie führten das auf eine Endotoxinwirkung zurück. BERRY und SMYTHE wiesen nach, daß die Aktivität der Tryptophanpyrrolase in der Mäuseleber nach Endotoxingabe absinkt, eine Wirkung, die durch Cortison zu verhindern ist (16). CORWIN und FARRAR stellten Versuche über die Inaktivierung von Endotoxin in Meerschweinchenleber an (40). KUN und ABOOD zeigten, daß Endotoxin von Salmonellen und Meningokokken die Glykogensynthese in der Rattenleber hemmt. Pyruvat und Lactat stiegen nach Endotoxingabe an, Phosphopyruvat fiel ab. Die Verfasser konnten zeigen, daß eine Hemmung der Pyruvatoxydation vorlag (72). JANOFF und ZWEIFACH kamen in ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß nach Endotoxingabe eine Veränderung im Bereich der Leberlysosomen mit Austritt lysosomaler Hydrolasen in das Blut eintrat (65). Schon 1948 beobachtete KUN eine komplette Glykogensynthesehemmung aus Glucose nach intraperitonealer Endotoxingabe (Salmonellendotoxin) (71). MIKOSCH konnte in seiner Dissertationsarbeit aus dem Jahre 1968 zeigen, daß nach intraperitonealer Endotoxingabe eine Abnahme des intrazellulären Kaliums in der Leber eintrat (78).

Aufgabe der eigenen Untersuchungen war es, mit Hilfe von Enzymmessungen im Gewebe und Substratmessungen

im Blut zu diesen Problemen Stellung zu nehmen.

1.2) Fragestellung:

- 1.) Welche Änderungen ruft die intraperitoneale Endotoxingabe (E.coli) im Kohlehydratstoffwechsel bei Ratten hervor?
- 2.) Treten nach intraperitonealer Endotoxingabe Änderungen im Enzymverteilungsmuster der Leber und der Muskulatur auf?
- 3.) Vergleich der Auswirkungen nach intraperitonealer Endotoxingabe mit denen nach experimentellem terminalen Strangulationsileus des Dünndarms.
- 4.) Klinische Folgerungen.

1.3) Literaturrückblick:

Das Wort Ileus leitet seinen Ursprung von dem griechischen Wort $\epsilon\lambda\epsilon\tilde{\nu}$ = drehen, winden ab, obwohl erste Erwähnungen über das Krankheitsbild des Ileus aus früherer Zeit stammen. Im EBERS-Papyros (um 3500 v. Chr.) wurde erstmals über eine erfolgreiche Ileusbehandlung durch Priester berichtet (60). 1727 wurde von RAMDOHR in Wolfenbüttel die erste erfolgreiche Darmresektion vorgenommen (60). REICHEL 1828 und KADER 1892 unterschieden erstmals zwischen Obstruktionsileus und Strangulationsileus (96). Die ersten experimentellen Untersuchungen mit einer verschlossenen Darmschlinge machte HALSTED schon 1887 (57).

Die Meinungen über die Ursache des Ileus und seine Behandlung haben sich im Laufe der Zeit oft geändert. Seine Aktualität hat das Ileusproblem aber nie verloren, da die Mortalität zu hoch war. 1922 wurde für

die Sofortoperation bei Vorliegen eines Ileus eine Mortalität von 20 % angegeben, für eine Operation nach 24 Stunden eine Mortalität von 70 % (19). 1947 lag die Mortalität bei den operierten Fällen um 35 %. (52). Mit Beginn der Antibiotikaära und besserer Kenntnisse über die Veränderungen im Wasser- und Elektrolythaushalt war eine bessere Vor- und Nachbehandlung möglich, wodurch die Mortalität - zumindest für die Fälle ohne Darmgangrän - auf 6 - 10 %, teilweise auf 1,17 % gesenkt werden konnte (58, 13, 85, 102).

Verschiedene Autoren vertraten die Meinung, die Höhe des Ileus spiele eine Rolle. HÄBLER konnte 1928 zeigen, daß der Dünndarminhalt umso toxischer war, aus je höheren Abschnitten er gewonnen wurde (56). CONNORS und WILLIAMS kamen 1923 zu dem Ergebnis, daß die Toxizität bei Dünndarmverschluss vom Rest-N-Gehalt abhängt. Dieser sei besonders hoch bei Verschlüssen im Bereich des Duodenum (39). BESSER stellte 1940 ebenfalls die These auf, die physiologischen und pathologischen Vorgänge beim Ileus seien von der Höhe abhängig (18). ALBERTI beobachtete bei hohem Dünndarmverschluss einen raschen Verlauf, bei tiefem Verschluss einen langsameren (2). Bei hohem Dünndarmverschluss waren nach Ansicht von AIRD Wasserverlust, Absinken des Chlorgehaltes im Blut, Alkaliämie und Azotämie die Todesursache (1). 1955 fanden SMITH, PERRY jr. und YONEHIRO bei Dünndarmverschlüssen eine schlechtere Prognose, weil im Dünndarm häufiger eine Gangrän, Überdehnung oder Perforation auftraten (85). So dominierten zeitweilig folgende Ansichten:

Autoallergie:

STELZNER beobachtete nach Anlage eines anus praeter bei Rectum-Ca immer wieder eine Komplikation: starke Diarrhoe und Gewebeeosinophilie im Operationspräparat;

er vermutete daher eine allergische Genese. Hunde, denen er eigene abgetötete Kolikeime i. v. gab, bekamen blutigen Durchfall. Da bei jeder Darmunwegsamkeit Kolikeime bis in den Magen aufsteigen, vermutete er auch beim Ileus durch verstärkte Resorption von Kolieiweiß einen anaphylaktischen Effekt im Sinne eines Sanarelli-Shwartzman'schen Phänomens. Als Therapiemöglichkeit schlägt er eine Unterdrückung des bei jeder Allergie entstehenden Histamins vor. (88).

Chemische Toxine:

STONE, BERNHEIM und WHIPPLE entdeckten 1912, daß der Darminhalt einer verschlossenen Darmschlinge im Gegensatz zu dem Inhalt eines normalen Darmes toxisch ist. WHIPPLE vermutete als Ursache eine Proteinintoxikation (89, 100). STONE und DAVIS konnten zeigen, daß frisches Darmsekret nicht toxisch ist, daß es aber toxisch wird, sobald in ihm eine Bakterienvermehrung stattfindet (90, 41).

DINES und GEIS sahen proteolytische Enzyme aus Bakterien und Mucosa als die Toxine an (42). LIGHT vermutete Lysozyme als "toxic agents" beim Ileus (74). WANGENSTEEN und LOUCKS stellten 1928 fest, daß die Darmautolyse, die nach einer Unterbrechung der Blutzufuhr auftritt, zu einer Histaminintoxikation führt. Die Verfasser waren damals noch nicht in der Lage zu erkennen, daß es nicht die Darmautolyse war, die zu Intoxikationserscheinungen führte, sondern der Darminhalt, der durch die alterierte Darmwand in die freie Bauchhöhle und in den Kreislauf gelangte (97). USHIDA lehnte allerdings schon früher die Autointoxikation als Todesursache beim Ileus ab, da die Resorption des Darmes mit zunehmender Dauer des Ileus schlechter wird, wie er an Versuchen mit Ura-nin und Eiereiweiß zeigen konnte (95). MANSBERGER jr.,

COWLEY, BESSMAN und BUXTON fanden bei Strangulationsileus einen erhöhten NH_3 -Spiegel, der anfangs nur im Pfortaderblut, später aber auch im peripheren Kreislauf gefunden wurde. Dieser NH_3 -Anstieg ließ sich durch Entkeimung des Gastrointestinaltraktes verhindern (75). BESSER stellte 1940 fest, daß Histamin einer der Stoffe war, die für die Toxizität im Schlingeninhalte bei Strangulationsileus verantwortlich waren (18). FUCHSIG und MARESCH ziehen zur Klärung des pathologischen Geschehens beim Ileus neben Stoffwechselstörungen, Kreislaufschäden und neurogenen Einflüssen auch die Autointoxikation heran (52). HENNING und BAUMANN nennen neben Bakterientoxinen noch Cholin, Neurin, Amine, Indol, Phenol und auch Histamin (61). BIEBL wies allerdings schon 1929 nach, daß Phenol-Indolkörper beim Ileus nicht zu einer Intoxikation führen (20).

Physikalische Faktoren:

BURGET, MARTZLOFF, THORNTON und SUCKOW konnten zeigen, daß Tiere den Ileus überlebten, wenn der Dehnungsdruck normal gehalten werden konnte (30, 31). HENNING und BAUMANN zeigten, daß es durch steigenden Darminnendruck zu einer Zirkulationsstörung kommt und damit zu einer Permeabilitätssteigerung (61). NEMIR, HAWTHORNE, COHN und DRABKIN beobachteten nach Strangulation eine Permeabilitätssteigerung der Darmwand mit Austritt einer charakteristisch gefärbten Flüssigkeit in die freie Bauchhöhle, die dann von hier aus in die Blutbahn gelangt (80). COHN betont zwar auch die Bedeutung der Dehnung bei der Manifestierung des Ileus, sagt aber, daß Dehnung allein ohne Vorhandensein von Bakterien keine Todesursache beim Ileus darstelle (35). KÜHLMAYER läßt die Frage offen, ob es ein Ileustoxin gibt, oder ob die schweren Allgemeinerscheinungen auf Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes

und die Überdehnung der strangulierten Schlinge zurückzuführen sind (70). Er sieht in den Folgen der Überdehnung (Beeinträchtigung der Transportfunktion, Resorptionsstörung) und der vermehrten Sekretproduktion eine Art *circulus vitiosus*.

Bakterien:

McCLURE wies bereits 1907 auf die Wichtigkeit des bakteriellen Faktors für die Strangulation hin (77). Grundlegende Tatsachen wurden von MURPHY und BROOKS und von DRAGSTEDT, MOORHEAD und BURKY bereits 1915 bzw. 1917 erarbeitet. Sie sollten sich als wegweisend für die gesamte weitere Forschung über die Pathophysiologie des Ileus erweisen. Beide Gruppen stellten folgende Punkte als entscheidend beim Ileus heraus:

- a) Hält man eine verschlossene Darmschlinge steril, ist die Überlebenszeit länger als bei einer infizierten.
- b) Verschlossene Darmschlingen führen dann nicht zu tödlichen Komplikationen, wenn sie frei von Bakterien sind.
- c) Bakterienaktivität und nekrotisches Gewebe, bzw. die Absorption von Bakterienprodukten aus nekrotischem Gewebe, sind die Hauptfaktoren beim Ileustod.
- d) Toxin überwindet die gesunde Darmmucosa nicht.
- e) Zirkulationsstörungen sind notwendig, damit eine Absorption stattfinden kann (79, 44).

Schon 1919 fanden DRAGSTEDT, L.R., DRAGSTEDT, C.A., McCLINTOCK und CHASE heraus, daß die charakteristische toxische Substanz beim Ileus nur in Gegenwart von Bakterien im Darmlumen entsteht (45). Unter den Darmkeimen ist es vor allem *Clostridium welchii*, welches sich im alkalischen Dünndarmmilieu, wie es ja beim Dünndarmileus vorliegt, besonders stark vermehrt, wie WILLIAMS zeigen konnte (101). BUCHHOLZ

und LANGE stellten 1927 fest, daß die Bakterienflora nicht die entscheidende Rolle beim Strangulationsileus spielen kann, da Tiere mit Ileus nach Entkeimung des Darminhaltes dennoch starben (29). Neue Impulse erhielt die Forschung über die Pathophysiologie des Ileus mit Beginn der Antibiotikakära. HARPER und BLAIN verwendeten erstmals Penicillin zur Kontrolle der Bakterienflora beim Ileus.

Dabei kamen sie zu folgenden Schlüssen:

- a) Darmwanddehnung in Gegenwart von bakteriziden Mitteln ist mit dem Leben vereinbar.
- b) Bakterienflora ist mit dem Leben vereinbar, wenn nicht gleichzeitig eine Darmwandüberdehnung besteht.
- c) Bei normaler Darmflora muß eine Darmwanddehnung der Darmwandinfektion vorausgehen (83, 59).

WAHREN stellte fest, daß man durch Einbinden der strangulierten Schlinge in einen Plastik- bzw. Gummisack die Überlebenszeit beim Strangulationsileus verlängern kann (96). COHN konnte durch postoperative örtliche Antibiotikagabe (Einspritzen durch eine Plastiksonde in die strangulierte Schlinge) die Sterblichkeit beim Ileus bei Versuchstieren fast auf null senken (34). BARNETT und CLIPPINGER stellten dagegen fest, daß man mit Penicillingaben zwar die Überlebenszeit verlängern, aber das Leben nicht erhalten kann (5).

Gegenwärtig sind Untersuchungen über Bakterienprodukte als "toxic agents" beim Ileus aktuell.

COHN faßte 1964 das Problem der Pathophysiologie des Ileus folgendermaßen zusammen: "The major arguments between various laboratories at the present time seem to depend upon whether the toxicity lies with the bacteria, with bacterial endotoxins, or with bacterial exotoxins" (38). TANTURI, ANDERSON und CANEPA wiesen im Lumen strangulierter Darmschlingen bei Hunden Lecithinase in 91 % und Hyaluronidase in 83 % nach, im Darmlumen gesunder Hunde fanden sie diese Enzyme nicht. Lecithinase ist

das Toxin der Clostridien. Die Verff. vermuteten, daß die mucolytischen Komponenten dieser Enzyme helfen, die Permeabilität der Darmwand zu verändern und so die rasche Entwicklung einer Gangrän zu ermöglichen (92). BORNSIDE und COHN untersuchten bei Hunden die Darmflora gesunder Tiere und die Darmflora einer strangulierten Schlinge. Sie stellten dabei fest, daß im Darm gesunder Tiere Escherichia, Clostridien, Streptokokken, Staphylokokken und Aerobacter dominieren. Bei Tieren mit einem Strangulationsileus dominieren (in der Schlingenflüssigkeit, der Peritonealflüssigkeit und in der Blutkultur) Escherichia, Clostridien und Bacterioides. Die dominierenden anaeroben Bakterien sind im gesunden Darm Bacteroides und in der verschlossenen Schlinge Clostridien (26). COHN konnte die Giftigkeit von Clostridien durch die Wirksamkeit der Clostridien-Antitoxine nachweisen, gleichzeitig konnte er die Proteinnatur dieses "toxic agent" zeigen (25). 1961 gewann COHN durch diese Untersuchungen folgende Vorstellung der pathophysiologischen Vorgänge beim Ileus: Nach der Strangulation treten im Darm Anoxie und Degeneration ein. Beide sind die beste Grundlage für Bakterienwachstum im Darm, insbesondere für Anaerobier. Die Bakterien produzieren Toxine, diese durchdringen die Darmwand, steigern deren Permeabilität und zerstören die Wand, wodurch wiederum in dieser Bakterien wachsen können. Tritt nun noch ein Dehnungsfaktor hinzu, wird schon durch diesen die Permeabilität gesteigert und die dafür notwendige Bakterienzahl kann verringert werden. Fehlt hingegen die Darmwanddehnung, muß ein größerer Gefäßschaden hinzutreten (36). Dadurch, daß es in der Folgezeit gelang, germ-free animals aufzuziehen, konnten COHN und Mitarbeiter ihre Ergebnisse noch weiter untermauern (37, 76). Germ-free animals überlebten einen Strangulations-

ileus ohne Schaden. Wurden sie lediglich mit Staphylokokken und Bazillus infiziert, überlebten sie den Ileus ebenfalls ohne Schaden. Die Tiere, in deren Darmlumen aber lediglich Clostridien waren, starben so wie die Tiere mit normaler Darmflora. Die Darmflora wurde in diesen Versuchen nicht nur praeoperativ und postmortal untersucht, sondern auch während des bestehenden Ileus. Dabei stellte sich heraus, daß bereits 6 Stunden nach Anlegen des Ileus das Maximum an Bakterienvermehrung eingetreten war. Vermehrt hatten sich in erster Linie Clostridien, Streptokokken und Koliformen (38).

PFEIFFER begründete in einer Arbeit über das Choleragift die Endotoxinlehre. Spricht man von Endotoxinen, so müssen nach seiner Ansicht ganz bestimmte Forderungen erfüllt sein:

- a) Die Giftsubstanz muß an die Bakterienzelle gebunden sein und nur durch tiefgreifende Änderungen von ihr zu trennen sein.
- b) Sekretion von Endotoxinen findet nicht statt, vielmehr entsteht die toxische Wirkung durch Zugrundegehen der Bakterienzellen.
- c) Es gibt keine "Anti-Endotoxine" (82).

Angegriffen wurde diese Lehre vor allem von KRAUS, der zwar neben den eigentlichen Toxinen auch noch sogenannte "endocelluläre Stoffe" fand, diese aber nicht in Gegensatz zu den Toxinen stellte (68, 69). Unterstützt wurde die PFEIFFER'sche Endotoxinlehre durch Untersuchungen von KOLLE, HELLER und de MISTRAL, die bei ihren Untersuchungen über die Wertbestimmung des Dysenterieserums zwei toxische Substanzen fanden: ein lösliches Toxin und ein an Zellen gebundenes Endotoxin (67). Eine Zusammenstellung der heutigen Ansicht über Aufbau und Wirkungsweise bakterieller Endotoxine geben GÖING und KAISER. In dieser Arbeit wird deutlich, wie genau PFEIFFER's Forderungen aus

dem Jahre 1908 den heutigen Vorstellungen entsprechen (55).

C.A. DRAGSTEDT, L.R. DRAGSTEDT und CHASE bezweifelten schon 1918 die Proteinnatur der Toxine der Schlingenflüssigkeit, weil sie keine spezifischen Antikörper finden konnten (43). Nach Untersuchungen von BARNETT und Mitarbeitern müssen Bakterienzellen in der Schlingenflüssigkeit vorhanden sein, um dieser Flüssigkeit eine toxische Komponente zu geben (4, 6, 7, 8, 9). FINE vermutete 1960 als "toxic agent" ebenfalls ein Endotoxin, welches im Darm entstehen sollte. Der Endotoxinnachweis gelang FINE 1960 (47). O'NEILL und FORSTER konnten in ihren Untersuchungen zeigen, daß bei Tieren, die eine tödliche Dosis E.coli-Endotoxin erhielten, die Überlebenszeit durch sympathicolytische Substanzen und Antihistaminika zu verlängern war. Besonders der kritische Blutdruckabfall, der zum Endotoxinschock führt, konnte so vermieden werden (81). URBASCHEK, VERSTEYL und GÖTTE konnten 1966 an juvenilen isolierten Meerschweinchenuteri eine histaminsensibilisierende Wirkung von Endotoxinen gramnegativer Keime feststellen. Durch Endotoxingabe konnte eine eben überschwellige Histaminkonzentration um 400 - 900 % gesteigert werden (94). Nach Endotoxingabe wurde von BLÜMEL und GOTTLÖB eine Erweiterung der abführenden Venen im Bereich des prästenotischen Dünndarmmesenteriums beobachtet (24). 1966 konnte FINE feststellen, daß der einer Endotoxininjektion folgende Schock eine Folge erhöhter Catecholaminaktivität im Bereich der nervi splanchnici und der Gefäße in diesem Bereich ist. Die Endotoxinwirkung entsteht aber nur, wenn diese Nerven intakt sind. Ganglienblockade kann diese Endotoxinwirkung unterbrechen. FINE faßte diese Ergebnisse wie folgt zusammen: "Thus we conclude that death from endotoxin is caused by the loss of integrity of the blood

vessels in the splanchnic area as a result of excessive and unrelenting activity of the catecholamines produced by the splanchnic sympathetic nerves" (48, 49).

ALTURA, THAW und HERSHEY bezweifeln allerdings aufgrund ihrer Untersuchungen, daß Endotoxin einen Schock auslösen kann. Sie konnten zeigen, daß Endotoxininjektion einen schon bestehenden Schock (der durch Unterbindung der arteria mesenterica superior ausgelöst wurde) nicht vertiefen kann (3).

2) M E T H O D I K

=====

2.1) Tiermaterial:

Tierart: Weibliche Ratten eines Inzuchtstammes.

Geliefert von der Firma Ivanovas aus Kisslegg im Allgäu.

Zur Verwendung kamen die Stämme 10-21.

n = 143

Gewicht: 200 g bis 360 g

Ernährung: Altromin R Mischfutter von

Altromin GmbH

401 Lage (Lippe)

Während des Aufenthaltes im Tierstall hatten die Tiere freien Zugang zu Wasser und Futter.

2.2) Versuchsanordnung

2.21) Nulltiere

n = 17 (R 22-24, 59-67, 69-73)
R 59, 60, 64, 65, 69, 70 wurden gleichzeitig
als Nulltiere zur Enzymmessung verwendet.

Definition der Nulltiere:

Herstellung von Null- bzw. Normal-
werten.

Ratten auf einer Tierwaage gewogen.

Narkose: Großes Glasgefäß mit einer Lage Zell-
stoff am Boden. Der Zellstoff wurde
mit rund 10 - 15 cm Aether getränkt. In die-
ses Gefäß wurde jeweils eine Ratte gelegt und
das Gefäß verschlossen. Waren die Tiere im To-
leranzstadium Stufe 3 der Narkose (Muskulatur
erschlaft, Pupillenstarre, keine Reaktion auf
Fremdreize, Tiere lagen auf der Seite), wurden
sie aus dem Gefäß herausgenommen.

Blutentnahme: Ratten auf den Rücken gelegt.

Mit Schere und Pinzette wurde
das Halsfell durchtrennt und die Muskulatur
vorn medial und lateral freigelegt. Mit ei-
nem kräftigen Schnitt des Skalpell wurden
Halsmuskulatur und Halsgefäße durchtrennt.
Das Blut wurde in graduierten Zentrifugen-
röhrchen (Kunststoffröhrchen der Firma Mar-
tin Christ, Osterode im Harz) aufgefangen
und sofort mit der entsprechenden Menge Per-
chlorsäure vermischt. Zum Mischen wurde ein
an einem Ende abgeflachter Plastikrührer ver-
wendet.

Gewebeentnahme (post mortal): Nach Rasur des
Bauches Eröff-
nung des Abdomens (paramedian). Zur Messung
der Enzyme im Gewebe wurden ein 1,5 x 1,5 cm
großes Stück des musc. rectus abdominis und
aus dem größten Leberlappen ein ebenfalls
1,5 x 1,5 cm großes Stück Leber (das Stück
wurde aus dem Zentrum des Lappens herausge-
schnitten) entnommen.

2.22) Kontrolltiere

n = 21

R 14, 15, 27, 30, 33, 36, 45, 46, 49, 52, 53,
55-58, 74-79

Definition der Kontrolltiere:

Um bei den Ileustieren die reinen Folgen des Strangulationsileus bestimmen zu können, untersuchten wir getrennt in einer eigenen Versuchsreihe die Folgen von Narkose und Laparotomie. Diese Kontrolltiere wurden 24 Stunden nach der Operation entblutet.

Operationsvorbereitungen: Ratten auf einer Tierwaage gewogen. Narkose wie unter 2.21) beschrieben. Die narkotisierten Tiere wurden am Bauch rasiert und auf ein eigens hergestelltes Rattenbrett gespannt (Maße: 40 x 25 cm; in den vier Ecken jeweils ein Nagel, um das Tier an seinen Extremitäten zwischen den Nägeln ausspannen zu können). Das Operationsfeld wurde gewaschen und mit "Merfen" desinfiziert. Die Narkose wurde je nach Bedarf vertieft. Zu diesem Zweck hatten die Ratten über Nase und Schnauze einen Erlenmeyer-Kolben (25 ccm), der einen mit Aether getränkten Zellstofflappen enthielt.

Laparotomie: 6 cm langer Hautschnitt in Medianlinie. Seitliches Abpräparieren der Haut von der Muskulatur. Durchtrennung der Muskulatur und Eröffnung des Bauchraumes. Bei Ratten ist Muskulatur und Peritoneum kaum voneinander zu trennen, daher wurden sie zusammen durchschnitten und zusammen genäht.

Verschuß des Operationsgebietes: Verschuß des Bauchraums (Peritoneum und Muskulatur) durch eine fortlaufende durchschlungene Katgutnaht. Anschließende Hautnaht durch Einzelknopfnähte (Seide).

Die Tiere wurden losgebunden und in einem Käfig 24 Stunden bei freier Flüssigkeitszufuhr, aber Nahrungsentzug gehalten.

Nach 24 Stunden: Narkose und Blutentnahme wie unter 2.21) beschrieben.

2.23) Endotoxintiere

n = 65 (Gesamtzahl)

50 Gamma/kg: n = 4 (R 101, 102, 104, 105)
24 Std.
500 Gamma/kg (24 Std.): n = 5 (R 106-110)
5000 Gamma/kg (6 Std.): n = 4 (R 111-113,
115)
5000 Gamma/kg (8 Std.): n = 5 (R 126, 127,
128, 131, 133)
10000 Gamma/kg (5 Std.): n = 5 (R 136, 138,
140, 141, 145)
3x2000 Gamma/kg (9 Std.): n = 11 (R 146, 147,
148, 150, 161-
165, 167, 168)
3x3000 Gamma/kg (9 Std.): n = 8 (R 151, 152,
154, 155, 156,
157, 158, 160)
4x3000 Gamma/kg (12 Std.): n = 11 (R 170-172,
176, 177, 179,
183, 184, 187,
188, 190, 191)

Bei den Tieren R 151, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 165, 167, 168, 170, 171, 184, 187, 188, 190 wurden noch zusätzlich im Gewebe (Leber und Muskel) die Enzyme GOT, GPT, ALD, LDH, MDH, GLDH und SODH gemessen.

Bei den Tieren R 198, 199, 203, 204, 208, 209 212, 214, 217, 218, 222, 223 wurden nur die Enzyme des Gewebes (Leber und Muskel) gemessen. Die Enzyme wurden gemessen bei folgenden Dosen:

5000 Gamma/kg (8 Std.): n = 8
3x2000 Gamma/kg (9 Std.): n = 6
3x3000 Gamma/kg (9 Std.): n = 11
4x3000 Gamma/kg (12 Std.): n = 8

Definition der Endotoxintiere: Ratten, denen eine bestimmte Menge gelöstes Endotoxin i.p. gespritzt wurde.

Endotoxin: Bacto 100 mg/Flasche
Lipopolysaccharide
E.coli o26:B6 Control 459281
DIFCO LABORATORIES
Detroit 1 Mich USA
Lieferant in Deutschland:
Firma Nordwald, Hamburg.

Allgemeiner Lösungsansatz: Die injizierte Menge an Flüssigkeit wurde so gewählt, daß sie in Bezug auf das Körpergewicht unabhängig von der Dosis konstant blieb. Dabei wurden einer Ratte von 300 g Gewicht genau 1 ml Flüssigkeit injiziert. Um jeweils dem Körpergewicht entsprechende Mengen injizieren zu können, wurde eine Tuberkulinspritze mit ihrer genauen Graduierung verwendet.

Die Tierwaage hatte eine Genauigkeit von 10 Gramm.

Genaue Lösungsansätze siehe unter Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen.

Einwaage des Endotoxins: Auf eine sterile Aluminiumfolie wurde mit einem sterilen Spatel das Endotoxin gegeben, die berechnete Menge auf einer Analysenwaage abgewogen und quantitativ in einen Meßkolben (10 bzw. 20 ml) überführt. Der Meßkolben wurde mit Aqua bidest. bis zur Marke aufgefüllt.

Injektion: Zum Aufziehen des gelösten Endotoxins in die Tuberkulinspritze und zur i.p. Injektion wurden jeweils neue sterile Kanülen (Nr. 1) verwendet.

Diese Tiere wurden vorher an der Injektionsstelle rasiert und desinfiziert.

Nach 5, bzw. 6, bzw. 8, bzw. 9, bzw. 12, bzw. 24 Stunden: Narkose, Blutentnahme und Gewebeatnahme wie unter 2.21) beschrieben.

2.24) Ileustiere

n = 40 (Gesamtzahl)

Ileus 24 Std.: n = 22 (R 1, 6, 11, 12, 13, 16, 17,
18, 28, 31, 32, 34, 35,
39, 41, 42, 43, 44, 47,
48, 50, 51)

Ileus 36 Std.: n = 7 (R 80 - 86)

Ileus 48 Std.: n = 11 (R 92, 94-98, 500, 502-
505)

Bei R 94, 95, 97, 98, 502 und 503 wurden zusätzlich im Gewebe (Leber und Muskel) die Enzyme GPT, GOT, ALD, LDH, MDH, GLDH und SODH gemessen.

Definition der Ileustiere: Tiere mit experimentellem tiefen Strangulationsileus (unteres Ileum). Operationsvorbereitungen, Narkose und Laparotomie wie unter 2.22) beschrieben.

Experimenteller Ileus: Aufsuchen des Coecum.
Herausnahme des Coecum und des unteren Ileum aus dem Abdomen und Auflegen auf eine sterile Gaze. Darstellung des unteren Ileum mit den zu- und abführenden Gefäßen. Durchtrennung des Mesenteriums nahe der Ileocoecalklappe und 6 cm proximal. Schnitt jeweils bis zur radix mesenterii.

Unterbindung des Ileum an der Coecalklappe.

Führen des einen freien Fadenendes durch die untere Mesenterialöffnung unter das Mesenterium und Herausführen durch die obere Mesenterialöffnung. Knüpfen beider Fadenenden auf der Unterbindungsstelle.

Verschuß des Operationsgebietes wie unter 2.22) beschrieben.

Die Tiere wurden 24, bzw. 36, bzw. 48 Std. in den Käfigen gehalten bei freier Flüssigkeitszufuhr, aber Nahrungsentzug.

Nach 24, bzw. 36, bzw. 48 Std.: Narkose, Blutentnahme und Gewebeentnahme (nur für Enzymtiere nach 48 Std.) wie unter 2.21) beschrieben.

2.3) Meßtechnik und Bestimmung der Fehlerbreite

2.31) Meßtechnik LACTAT

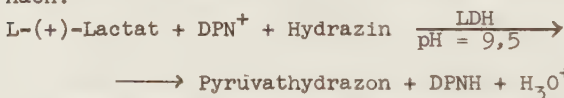
Die Messungen erfolgten am Photometer Eppendorf der Eppendorf-Gerätebau
Netheler & Hinz GmbH
Hamburg-Willingsbüttel.

Allgemeines: Die Methode der enzymatischen Bestimmung von L-(+)-Milchsäure, die hier verwendet wurde, richtet sich in ihren Grundzügen nach der von H.J. HOHORST angegebenen Methode.

"Prinzip: Lactat-Dehydrogenase (LDH) katalysiert die Dehydrierung von L-Lactat durch Diphosphopyridinnucleotid (DPN):



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt auf der linken Seite. Die Gleichgewichtskonstante beträgt $K_G = 2.9 \cdot 10^{-12}$ Mol/l (25°C). Zur quantitativen Dehydrierung von L-Lactat müssen die Reaktionsprodukte aus dem Gleichgewicht entfernt werden. Protonen werden durch ein alkalisches Reaktionsmedium gebunden. Pyruvat wird als Hydrazon abgefangen. Die dem optischen Test für L-Lactat zugrundeliegende Gleichung lautet demnach:



Die Gleichgewichtskonstante dieser Reaktion beträgt bei 25°C und $\text{pH} = 9,5$, $K_G \approx 7 \cdot 10^{-2}$. Für eine quantitative und hinreichend schnelle Reaktion sind relativ hohe Konzentrationen an DPN und Lactat-Dehydrogenase notwendig. Der Ablauf der Reaktion wird spektrophotometrisch gemessen (Extinktionszunahme durch DPNH-Bildung)" (64).

Speziell: Im weiteren Verlauf wurde nach der Testvorschrift: Enzymatische Bestimmung der L-Lactat-Konzentration im Blut oder Serum (UV-Test mit DPN) TC-B, Art.-Nr. 15972, Biochemica Test Combination der Firma:
C.F. Boehringer & Söhne GmbH
Mannheim
Biochemische Abteilung
vorgegangen.

Die Methode der Blutentnahme wurde schon unter 2.21) beschrieben.

Das Blut floß direkt aus den geöffneten Halsgefäßen in die graduierten Zentrifugenröhrchen (benötigte Menge: 1 ml). Sofort wurde 1 ml eiskalte 0,6 M Perchlorsäure zugesetzt und Blut und Perchlorsäure mit einem Plastikspatel gut vermischt. Das Gemisch wur-

de rund 10 min bei 3000 U/min in einer gekühlten Zentrifuge (4° C) zentrifugiert. Vom Überstand wurden 0,05 ml für den kleineren Test verwendet.

Verwendete Reagenzien:

I : Glycin-Puffer (Glycin, Hydrazinhydrat)

II : DPN (Diphosphopyridinnucleotid)

III: LDH (Lactat-Dehydrogenase)

Dazu 0,6 M Perchlorsäure zum Enteiweißen:

Perchlorsäure p.a., Dichte 1,67; 70 %

Nacheinander wurden in ein Reagenzglas pipettiert:
Vollwert:

1,00 ml Glycin-Puffer
0,05 ml Überstand nach Enteiweißung
0,015 ml LDH (III)
0,10 ml DPN (II)

Leerwert:

1,00 ml Glycin-Puffer
0,025 ml Perchlorsäure
0,025 ml bidest. Wasser
0,015 ml LDH (III)
0,10 ml DPN (II)

Bis R 33 wurde der eben beschriebene Ansatz des Leerwertes verwendet, ab R 34 wurde folgender Ansatz des Leerwertes verwendet:

1,00 ml Glycin-Puffer
0,05 ml Perchlorsäure
0,015 ml LDH (Suspension 2)
0,10 ml DPN (Lösung 3)

Der Inhalt beider Reagenzgläser wurde gut vermischt, und dann wurden die Gläser eine Stunde in ein Wasserbad von 25° C gestellt.

Anschließend wurde der Inhalt der Gläser in 10 mm Küvetten umgegossen. Bei 366 mμ wurden die Küvetten gegen Luft gemessen. Die Extinktion des Leerwertes von der des Vollwertes abgezogen ergibt die Extinktionsänderung ΔE. Die Menge an Überstand nach der Enteiweißung reichte aus, um mehrere Bestimmungen machen zu können. Von R 1-17 stellt ΔE den Mittelwert aus 12 Bestimmungen dar, von R 18-33 den Mittelwert aus 10 Bestimmungen, ab R 34 den Mittelwert aus 8 Bestimmungen.

Berechnung: Da in meiner Versuchsanordnung immer mit kleineren Mengen gemessen wurde, muß die Berechnung gegenüber der der Anleitung besonders im Hinblick auf die Verdünnung etwas geändert werden. "Die Reaktion läuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Eine Extinktionsdifferenz von 0,100 entspricht (gemäß den Extinktionskoeffizienten für DPNH) für die Messung bei 366 mμ 0,0303 μMol DPNH/ml, somit ebenso vielen μMolen Lactat/ml" (22), oder im Küvetteninhalt von 1,165 ml 0,03525 μMolen Lactat.

Umrechnung in μg Lactat:

Molekulargewicht von Lactat: 90,08

$$0,03525 \mu\text{Mol} \times \frac{90 \text{ g}}{\text{Mol}} = 3,175 \mu\text{g Lactat}$$

"Um den Lactat-Gehalt im ml des untersuchten Blutes oder Serums zu erhalten, ist die bei der Enteiweißung eingetretene Verdünnung zu berücksichtigen. Blut enthält ca. 80 % seines Gewichts an Flüssigkeit, 1 ml Blut wiegt 1,06 g. Bei Serum entfällt die Berücksichtigung der geformten Elemente; der Volumenfehler durch Entfernung des Eiweißes ist zu vernachlässigen. Bei Einsatz von 1 ml Blut = 1,06 g ergibt die Enteiweißung:

$$1,06 \times 80/100 + 1 \text{ (Perchlorsäure)} = 1,85 \text{ ml Extrakt;}"$$

(22) davon werden 0,05 ml zum Test eingesetzt.

1,85 ml Extrakt entsprechen 1 ml Blut. Verdünnung:

$$1,85/1$$

Zum Test werden 0,05 ml eingesetzt. Verdünnung: 1/0,05

Satz: Verdünnungen sind multiplikativ.

$$\text{Also folgt: } 1,85/1 \times 1/0,05 = 37$$

Die Umrechnung auf Lactat/ml Blut erfolgt also mit dem Faktor 37.

Daraus folgt für die Messung bei 25° C und 366 m μ :

$$0,1 \Delta E \times 3,175 \times 37 = \mu\text{g Lactat im ml Blut}$$

$$0,1 \Delta E \times 117,5 = \mu\text{g Lactat im ml Blut}$$

$$1 \Delta E \times 1175 = \mu\text{g Lactat im ml Blut}$$

Umrechnung von μg in mg%:

$$\begin{aligned} 1175 \mu\text{g} &= 1175 \cdot 10^{-6} \text{ g} \\ &= 1175 \cdot 10^{-4} \% \text{ g} \\ &= 117,5 \cdot 10^{-3} \% \text{ g} \\ &= 117,5 \text{ mg\%} \end{aligned}$$

So ergibt sich endgültig folgende Gleichung:

$$\Delta E \times 117,5 = \text{mg\% Lactat im Blut}$$

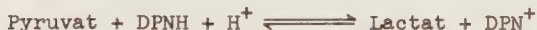
2.32) Meßtechnik PYRUVAT:

Die Messungen erfolgten am Photometer Eppendorf der Eppendorf-Gerätebau
Netheler & Hinz GmbH
Hamburg-Willingsbüttel

Allgemeines: Die Methode der enzymatischen Bestimmung von Pyruvat, die hier verwendet wird, richtet sich in den Grundzügen nach der von Th. BÜCHER, R. CZOK, W. LAMPRECHT, E. LATZKOW angegebenen Methode. "Das Prinzip der Bestimmung von Substraten glykolytischer Enzyme im optischen Test mit Pyridinnucleotiden ist von O. WARBURG und seinem Arbeitskreis entwickelt worden. Für Pyruvat im Plasma wurde eine solche Bestimmungsmethode 1943 von KUBOWITZ und OTT angegeben. Inzwischen hat sich die enzymatische Bestimmung von Pyruvat mit Lactat-Dehydrogenase wegen ihrer Einfachheit und Spezifität gegenüber anderen Methoden z. B. den Dinitrophenylhydrazin-Methoden durchgesetzt.

Prinzip:

Lactat-Dehydrogenase (LDH) katalysiert die Hydrierung von Pyruvat mit reduziertem Diphosphopyridinnucleotid:



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weit auf der rechten Seite. Der Wert der Gleichgewichtskonstanten beträgt (25° C) $4 \cdot 10^{11}$ (1/Mol) bei pH = 0; $4 \cdot 10^7$ (1/Mol) bei pH = 7,0 und $1 \cdot 10^4$ (1/Mol) bei pH = 7,6. Bei praktisch tragbarem Überschuß an DPNH läuft die Reaktion schnell ab und überführt Pyruvat quantitativ in Lactat. Gemessen wird die Abnahme der DPNH-Extinktion" (28).

Im weiteren Verlauf wurde nach der Testvorschrift: Enzymatische Bestimmung der Pyruvat-Konzentration im Blut (UV-Test mit DPNH), Biochemica Test Combination, Kennwort: TC-C, Artikel-Nr. 15973 vorgegangen.

Speziell: Die Methode der Blutentnahme wurde schon unter 2.21) beschrieben. Das Blut floß aus den eröffneten Halsgefäßen direkt in die graduierten Zentrifugenröhrchen (benötigte Menge 4 ml). Sofort wurden 4 ml eiskalte 0,6 M Perchlorsäure zugesetzt. Blut und Perchlorsäure wurden mit einem Plastikspatel gut vermischt. Das Gemisch wurde rund 10 min. bei 3000 U/min in einer gekühlten Zentrifuge (4° C) zentrifugiert.

Notwendige Reagenzien:

Dikaliumhydrogenphosphat K_2HPO_4 (I)
Reduz. Diphosphopyridinnucleotid DPNH (II)
Lactat-Dehydrogenase, LDH (III)
Perchlorsäure p.a., Dichte 1,67; 70 %

Vom Überstand wurden genau 3 ml mit 1 ml Phosphatlösung (I) versetzt und 10 min. im Eisbad (Gefäß mit Eis, 10 min. in Eisschrank) stehen gelassen. Danach wurde der Überstand vom ausgefallenen Kaliumperchlorat abfiltriert und im Wasserbad auf 25° C temperiert. Zum Testansatz wurde 1 ml Überstand verwendet. Es wurden stets zwei Bestimmungen durchgeführt. In die 10 mm-Küvette wurde pipettiert:

1,00 ml Überstand

0,025 ml DPNH (II)

mit Plastikspatel gemischt und die Extinktion E_1 bei 366 mμ gegen Luft gemessen. Dann wurden

0,025 ml LDH (III)

eingemischt und zwischen 3-5 min die Extinktion E_2 abgelesen.

$$E_1 - E_2 = \Delta E$$

Berechnung:

Da kleinere Mengen zum Testansatz kamen als in der Anleitung, müssen auch andere Berechnungen durchgeführt werden, vor allem was die Verdünnungen betrifft. "Die Reaktion verläuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Eine Extinktionsdifferenz (ΔE) von 0,100 entspricht (gemäß den Extinktionskoeffizienten für DPNH) für die Messung bei 366 mμ 0,0303 μMol DPNH/ml, somit ebenso vielen μMolen Pyruvat/ml" (21) oder im Küvetteninhalt von 1,05 ml 0,0318 μMol Pyruvat.

Umrechnung von μMol in μg:

Molekulargewicht von Pyruvat: 88

$$0,0318 \mu\text{Mol} \times \frac{88 \text{ g}}{\text{Mol}} = 2,8 \mu\text{g Pyruvat}$$

"Um den Pyruvatgehalt im ml des untersuchten Blutes zu erhalten, sind die bei der Enteiweißung und Neutralisation des Perchlorsäureextraktes eingetretenen Verdünnungen zu berücksichtigen. Blut enthält ca. 80% seines Gewichts an Flüssigkeit, 1 ml Blut wiegt 1,06 g. Bei Einsatz von 4 ml Blut = 4,25 g ergibt die Enteiweißung:

0,25 x 80/100 + 4 (Perchlorsäure) = 7,40 ml Extrakt" (21); 7,4 ml Extrakt (E) entsprechen 4 ml Blut (B), 7,4/4 ml Extrakt entsprechen 1 ml Blut. Von den 7,4 ml werden 3 ml mit 1 ml Phosphat neutralisiert:

3 ml Extrakt + 1 ml Phosphat = 4 ml Neutralisationslösung (N). Verdünnung 4/3

Von diesen 4 ml wird 1 ml zum Test eingesetzt.

Satz: Verdünnungen sind multiplikativ. Gesamtverdünnung dann:

$$\frac{7,4 \text{ ml E}}{4 \text{ ml B}} \times \frac{4 \text{ ml N}}{3 \text{ ml E}} \times \frac{1}{1 \text{ ml N}} = \frac{7,4}{3 \text{ ml Blut}}$$

Die Umrechnung auf Pyruvat/ml Blut erfolgt also mit dem Faktor 7,4/3 = 2,46.

Es ergibt sich jetzt:

$$0,1 \Delta E \times 2,8 \times 2,46 = \mu\text{g Pyruvat/ml Blut}$$

$$1 \Delta E \times 28 \times 2,46 = \mu\text{g Pyruvat/ml Blut}$$

$$\text{also } \Delta E \times 68,8 = \mu\text{g Pyruvat/ml Blut}$$

Umrechnung von μg auf $\text{mg}\%$

$$\begin{aligned} 68,8 \mu\text{g} &= 68,8 \cdot 10^{-6} \text{ g} \\ &= 68,8 \cdot 10^{-4} \text{ } \text{mg} \\ &= 6,88 \cdot 10^{-3} \text{ } \text{mg} \\ &= 6,88 \text{ mg}\% \end{aligned}$$

So ergibt sich endgültig folgende Gleichung:

$$\Delta E \times 6,88 = \text{mg}\% \text{ Pyruvat im Blut}$$

=====

2.33) Bestimmung der Fehlerbreite

2.331) LACTAT: Vorbereitungen und Testansatz wie unter 2.31) beschrieben

Ergebnisse: Es wurden 12 Bestimmungen durchgeführt:

$$\begin{aligned}\sum x_i &= 149,25 && \text{mg \% im Blut} \\ \alpha &= 12,43 && \text{mg \% im Blut} \\ \sum (\alpha - x_i)^2 &= 147,43 \\ \frac{\sum (\alpha - x_i)^2}{n-1} &= 13,40 = \sigma^2 \\ \sigma &= \pm 3,66\end{aligned}$$

Erklärung von x_i, α, σ , usw. siehe unter 2.4).

2.332) PYRUVAT: Vorbereitungen und Testansatz wie unter 2.32) beschrieben.

Ergebnisse: Es wurden 8 Bestimmungen durchgeführt:

$$\begin{aligned}\sum x_i &= 5,02 && \text{mg \% Pyruvat im Blut} \\ \alpha &= 0,63 && \text{mg \% Pyruvat im Blut} \\ \sum (\alpha - x_i)^2 &= 0,477 \\ \frac{\sum (\alpha - x_i)^2}{n-1} &= 0,068 = \sigma^2 \\ \sigma &= \pm 0,26\end{aligned}$$

Erklärung von x_i, α, σ , usw. siehe unter 2.4).

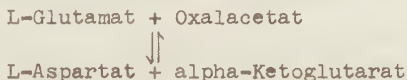
2.34) Methodik der Enzymmessung

2.341) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase: (10)

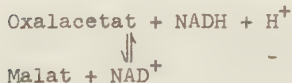
Allg.: Man findet GOT in allen Mikroorganismen und allen bisher untersuchten tierischen und menschlichen Geweben. Den größten Anteil an GOT besitzt der Herzmuskel, es folgen Gehirn und Leber; den geringsten Anteil findet man im Serum.

Nach BÜCHER gehört die GOT zu den extra- und intramitochondrialen Enzymen der Zelle. Daher reicht bei der Bestimmung der GOT im Gewebe das einfache Homogenisieren und Zentrifugieren nicht aus. Wir verwendeten daher zur Homogenisierung den Ultra-Turrax (der Firma Janke u. Kunkel K.G., Staufen i. Br.).

Prinzip: GOT katalysiert folgende Reaktion:



An Hand der zeitlichen Zunahme des Oxalacetats mißt man die Zunahme der GOT-Aktivität (die Reaktion läuft von unten nach oben ab). Oxalacetat wird mit folgender durch MDH katalysierten Indikator-Reaktion bestimmt:



Der Verbrauch an NADH ist der Menge an Oxalacetat proportional. Man mißt dann die Abnahme der NADH-Extinktion.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:

0,06 ml NADH ($3,2 \times 10^{-4}$ M), 1,70 ml P-P (mit Trilon) (0,1 M pH 7,5), 0,04 ml KGS ($7,0 \times 10^{-3}$ M), 0,05 ml MDH (1:10). 1. Start mit Homo (0,05 ml). 2. Start mit Aspartat (0,10 ml $5,0 \times 10^{-2}$ M).

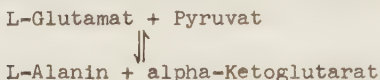
Berechnung siehe unter 2.349)

2.342) Glutamat-Pyruvat-Transaminase: (11)

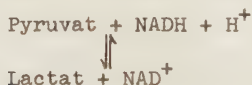
Allg.: Unter den menschlichen Geweben enthält die Leber den größten Anteil an GPT, es folgen Niere, Herz, Skelettmuskel. Am wenigsten GPT findet man im Serum.

Im Überstand eines hochtourig zentrifugierten Leberhomogenates findet man GPT nur teilweise (bei Rattenleber nur 65 - 70 %), daher erfolgte die Homogenisierung wieder mit dem Ultra-Turrax (der Firma Janke und Kunkel K.G., Staufen i. Br.).

Prinzip: GPT katalysiert die Reaktion:



Die Reaktion läuft von unten nach oben ab. Man mißt die zeitliche Zunahme des Pyruvats, das durch die von LDH katalysierte Indikator-Reaktion bestimmt wird:



Die zeitliche Zunahme an Pyruvat ist dem NADH-Verbrauch proportional. Gemessen wird die Abnahme der NADH-Extinktion.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:

0,05 ml NADH ($2,5 \times 10^{-4}$ M), 1,40 ml P-P (mit Trilon) (0,1 M pH 7,5), 0,05 KGS ($9,0 \times 10^{-3}$ M), 0,05 LDH (1:10). 1. Start mit 0,05 ml Homo. 2. Start mit 0,40 ml Alanin ($8,0 \times 10^{-2}$ M).

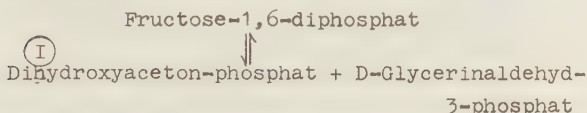
Berechnung siehe unter 2.349)

2.343) Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase: (27)

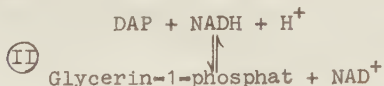
Allg.: Außer der unten angegebenen Reaktion katalysiert ALD noch die Bildung von D-Fructose-1-phosphat und L-Sorbose-1-phosphat. Kristallines, aus Rinderleber gewonnenes Enzym katalysiert die Synthese von Erythrulose-phosphat und die Spaltung von D-Fructose-1-phosphat.

Den höchsten ALD-Gehalt findet man in der Skelettmuskulatur, hier macht das Enzym 10 % des gesamten wasserlöslichen Proteins aus. In der Ratte nehmen die ALD-Aktivitäten in folgender Reihenfolge ab: Skelettmuskel, Herzmuskel, Leber, Erythrozyten, Serum.

Prinzip: ALD katalysiert die Reaktion:



Um die Aktivität der ALD zu bestimmen, mißt man die pro Zeiteinheit aus Fructose-1,6-diphosphat entstehenden Triphosphate Dihydroxyacetonphosphat (DAP) und D-Glycerinaldehyd-2-phosphat (GAP). DAP und GAP finden sich in einem Gleichgewicht, dessen Einstellung durch Triosephosphat-Isomerase (TIM) katalysiert wird. Das Gleichgewicht liegt zu 96 % auf Seiten der DAP. DAP wird mit Glycerin-1-phosphat-dehydrogenase (GDH) und NADH in der vollständig ablaufenden Indikatorreihe hydriert:



Reaktion I) ist geschwindigkeitsbestimmend, wenn man TIM und GDH im Überschuß gibt. DAP und GAP werden vollständig umgesetzt.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:

0,04 ml NADH ($2,0 \times 10^{-4}$ M), 1,74 ml Trap ohne Trilon, 0,02 GDH/TIM (1:1), 0,10 Homo.
Start mit 0,10 ml FDP ($1,2 \times 10^{-2}$ M).

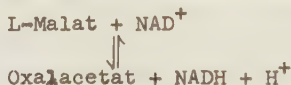
Berechnung siehe unter 2.349)

2.344) Malat-Dehydrogenase: (13)

Allg.: Thunberg, Batelli und Stern entdeckten die MDH, Staub isolierte sie zuerst aus Schweineherz. Sie kommt vor in pflanzlichen und tierischen Geweben und in Mikroorganismen. Da MDH ein Enzym des Citronensäurezyklus ist, findet es sich größtenteils in den Mitochondrien und Sarcosomen. MDH aus dem m-Raum und aus dem c-Raum unterscheiden sich hinsichtlich des pH-Optimums und der Substratspezifität. Die MDH-Konzentration in der Zelle ist um einiges größer als im extrazellulären Raum. Es gibt mehrere Isoenzyme. Im allgemeinen tritt die Cytoplasma-MDH ins Serum über, bei schweren Schäden auch die Mitochondrien-MDH. Die MDH der Herzmuskelzelle ist fast ganz im Cytoplasma lokalisiert. Die absolute Aktivität im Cytoplasma ist in der Leber am größten.

Der Gesamtgehalt der MDH der Zelle wird nur nach optimaler Homogenisierung erfasst, weil eben ein Teil der MDH in Mitochondrien lokalisiert ist.

Prinzip: MDH katalysiert folgende Reaktion:



Bei neutralem pH liegt das Gleichgewicht weit auf der oberen Seite, daher mißt man mit Oxalacetat als Substrat und NADH als Coenzym. Die Menge Oxalacetat, die pro Zeiteinheit umgesetzt wird, gemessen an der NADH-Extinktionsabnahme, gilt als Maß für die MDH-Aktivität.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:
0,04 ml NADH ($2,0 \times 10^{-4}$ M), 1,90 ml Trap
(mit Trilon) (0,05 M pH 7,5), 0,02 ml Homo. Start mit 0,04 ml OA ($4,0 \times 10^{-4}$ M).

Berechnung siehe unter 2.349)

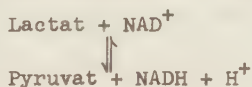
2.345) Lactat-Dehydrogenase: (12)

=====

Allg.: Erstmalig 1943 aus Rattenmuskel kristallin gewonnen. In den menschlichen Organen ist LDH in unterschiedlicher Menge enthalten. Die größte Menge findet man in der Niere, es folgen Herz, Skelettmuskel, Pankreas, Milz, Leber, Lunge und Serum. Die LDH-Aktivität, die man im Serum findet, ist verschiedenen Ursprungs, aber von gleicher Wirkungs- und Substratspezifität. In den einzelnen Organen besteht die jeweilige LDH noch aus trennbaren enzymatisch aktiven Fraktionen.

LDH gehört zu den Cytoplasma-Enzymen. Hier reicht an sich einfaches Homogenisieren aus, wir haben aber trotzdem im Ultra-Turrax homogenisiert. Man bestimmt die Aktivität im Überstand nach Zentrifugieren (hochtourig) des Homogenates.

Prinzip: LDH katalysiert folgende Reaktion:



Das Gleichgewicht liegt auf der Seite von Lactat. Der zeitliche Umsatz an Pyruvat, gemessen an der Abnahme der NADH-Extinktionsabnahme, ist ein Maß für die LDH-Aktivität.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:

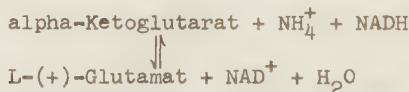
0,05 ml NADH ($2,6 \times 10^{-4}$ M), 1,90 Tropfen (mit Trilon) (0,05 M pH 7,5), 0,02 ml Homo. Start mit 0,03 BTS (Pyruvat) ($1,5 \times 10^{-3}$ M).

Berechnung siehe unter 2.349)

2.346) Glutamat-Dehydrogenase: (84)

Allg.: Man findet GLDH in Mikroorganismen, Pflanzen und Warmblüter-Gewebe. Beim Säugetier enthält die Leber die meiste GLDH. Es folgen Nierenrinde, Großhirnrinde, Magenschleimhaut, Lymphknoten. Der Anteil der Muskulatur ist gering. Im kernlosen Erythrozyten- und im Normalserum findet man keine GLDH. Wenn man GLDH im Serum findet, so liegt sehr häufig ein Leberzellschaden vor. GLDH reagiert mit NAD und NADH. Die Bestimmung der Geschwindigkeit über die NADH-Oxydation ist für die GLDH-Bestimmung am besten. In der Leber ist die GLDH in den Mitochondrien lokalisiert, sie ist meßbar, sobald die Mitochondrienmembran für Coenzyme und Substrate durchlässig ist. Für die Quantität des Enzyms im Gewebe ist also die Stärke des mech. Aufschlusses von Bedeutung. Homogenisiert man 2 Minuten im Ultra-Turrax, findet man sofort 92 - 97 % im Überstand, nach 24 Std. die gesamte Aktivität.

Prinzip: GLDH katalysiert die Reaktion:



Das Gleichgewicht liegt auf Seiten des Glutamats. Der Verbrauch an NADH (Oxydation) ist dem Substratumsatz direkt proportional. Gemessen wird die Extinktionsabnahme von NADH.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:

0,03 NADH ($1,6 \times 10^{-4}$ M), 1,81 ml Trap (mit Trilon) (0,05 M pH 7,5), 0,05 Trilon, 0,01 Ammonacetat ($1,5 \times 10^{-2}$ M), 0,05 ml Homo, 0,05 ml KGS ($8,0 \times 10^{-3}$ M).

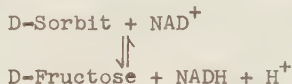
Berechnung siehe unter 2.349)

2.347) Sorbit-Dehydrogenase: (53)

Allg.: Wurde zuerst 1951 von Blakley beschrieben. Man findet SDH in der Leber und in den Genitalorganen zahlreicher Säuger. Unter den menschlichen Organen ist die Leber am SDH-reichsten. Im Serum und im hämolytierten Vollblut findet man SDH kaum. SDH wird auch als Polyl-Dehydrogenase bezeichnet. SDH ist also in den Seren gesunder Menschen nicht vorhanden, sondern wird erst bei Leberzellschaden jeglicher Art im Serum nachweisbar. Die Serum-Aktivität ist dann ein nahezu spezifischer Indikator für eine Leberzellschädigung.

Für die Messung im Gewebe gilt das bei LDH Gesagte. SDH ist ein cytoplasmatisches Enzym. Bei der Bestimmung der Leber-SDH bestimmt man meist noch die Xylit-Dehydrogenase mit, die annähernd homospezifisch mit der SDH ist, aber nicht identisch.

Prinzip: SDH katalysiert folgende Reaktion:



Die SDH-Aktivität kann in beiden Richtungen gemessen werden. Die Extinktionsabnahme der NADH ist (Fructose als Substrat) ein Maß für die SDH-Aktivität.

Gemessen wurde nach folgendem Ansatz:

0,05 ml NADH ($2,5 \times 10^{-4}$ M), 1,45 Trap ohne Trilon (pH 7,4), 0,10 ml Homo. Start mit 0,40 ml Fructose (0,25 M). Bei Bestimmung in der Leber verwendet man 1,50 ml Trap ohne Trilon und 0,05 ml Homo.

Berechnung siehe unter 2.349)

2.348) Homogenisieren und Herstellen von Biuret-
reagens:

Homogenisieren:

Gewebe auf Filterpapier von Blut befreien, dann wiegen. Auf 1mg Gewebe kommen bei Leber 0,04 ml 0,9 %ige NaCl, bei Muskel 0,01 ml 0,9 %ige NaCl. 2 min im Ultra-Turrax (der Firma Janke u. Kunkel K.G., Staufen i. Br.) unter Eiskühlung homogenisieren, dann 20 - 30 Minuten hochtourig (2000 - 3000 U/min) zentrifugieren, dann dekantieren und im Überstand messen.

Herstellen von Biuretreagens:

In etwa 400 ml 0,2 n NaOH lösen:
4,5 g Kaliumnatriumtartrat
1,5 g Kupfersulfat
2,5 g Kaliumjodid
auffüllen auf 500 ml 0,2 n NaOH.

Bestimmung für Gewebe:

0,05 ml Homo
2,45 ml NaCl
2,50 ml Biuret
5,00 ml
30 Minuten stehen lassen, gegen Leerwert messen. Filter 546.
Leber : sE x 6,8 = Protein/g
Muskel: sE x 1,7 = Protein/g

2.349) Berechnung und Bestimmung der Fehlerbreite:

Meßstrahlung: 366 mμ, Schichtdicke: 1 cm,
Meßvolumen : 2,0 ml, Meßtemperatur: 25° C
(thermokonstantes Wasserbad).
Die Aktivität wird in Units pro Gramm
Frischgewicht gemessen.

$$1 \text{ U} = \frac{\mu\text{Mol Substrat}}{\text{Minute}} \quad \text{bei } 25^{\circ} \text{ C}$$

$$\text{mU/g Fr.} = \frac{0,303 \times E \times 1000 \times E \text{ vol}}{\text{Testvol} \times d \times (\text{Verdünnung})} \\ \times \text{Praep. vol} \times \text{ml/g}$$

ml/g bei Leber : 1 mg auf 0,04 ml
 1 g auf 40 ml

ml/g bei Muskel: 1 mg auf 0,01 ml
 1 g auf 10 ml

Wenn man einige Anteile der Formel standardisiert, d. h. immer in der gleichen Weise anwendet, kann man die Formel vereinfachen:

$$\text{mU/g Fr.} = \frac{\text{E x s}}{\text{Testvol.}}$$

$$\begin{aligned} \text{s (Leber)} &= 0,303 \times 1 \times 2 \times 40 = 24,24 \\ \text{s (Muskel)} &= 0,303 \times 1 \times 2 \times 10 = 6,06 \end{aligned}$$

$$\text{Spezifische Aktivität} = \frac{\text{Aktivität}}{\text{mg Extrakt-Prot./g}}$$

$$\frac{\text{mU/g Fr.}}{\text{mg Ex.-Prot/g}} = \text{mU/mg Extrakt-Prot.}$$

$$= \text{U/g Extraktprotein}$$

Die Substrate, Enzyme und Coenzyme wurden von der Firma C.F. Boehringer & Söhne, Mannheim-Waldhof, bezogen.

Methodische Fehlerbreite für sämtliche gemessenen Enzyme $< \pm 5\%$.

Normwerte im eigenen Kollektiv siehe Tabelle XII und XIII.

2.4) Auswertung (Statistik)

Auswertung nach den statistischen Regeln der Streuung und Signifikanzberechnung mit besonderer Berücksichtigung der Formeln für kleine Kollektive bei nicht GAUSS'scher Verteilung.

Die statistische Auswertung erfolgte nach folgenden Gleichungen:

x_i = Einzelwert

$\sum x_i$ = Summe der Einzelwerte

$\alpha = \frac{\sum x_i}{n}$ = Mittelwert der Einzelwerte

$\alpha - x_i$ = Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert

$$\sigma^2 = \frac{\sum (\alpha - x_i)^2}{n-1}$$

$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (\alpha - x_i)^2}{n-1}}$ = Abweichung des Kollektivs vom Mittelwert

$$Q = \frac{\alpha_1 - \alpha_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2} + 10}}$$

$$Z = 3 + \frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{n_1 + n_2}$$

Q = oder $> z$ = signifikanter Unterschied zwischen 1 und 2

3) ENDOTOXINERGEBNISSE =====

3.1) Metabolite

Die ermittelten Werte wurden zu den Werten in Beziehung gesetzt, die an den sogenannten Nulltieren (Definition siehe unter 2.21) gewonnen wurden (35a -I)

Der Lactat/Pyruvatquotient wurde untersucht, weil er nach HOHORST, KREUTZ und BÜCHER zum Status von Redox-Systemen in Beziehung steht (63). Die Versuche wurden in zwei Gruppen unterteilt:

- 1.) einmalige Endotoxingabe
- 2.) wiederholte Endotoxingabe

Die injizierte Flüssigkeitsmenge wurde immer konstant um 1 ccm gehalten, um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen und Belastungen der Tiere durch zu große Flüssigkeitsmengen zu vermeiden.

3.11) Einmalige Endotoxingabe

3.111) 50 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 24 Stunden

Lösungsansatz:

5 mg Endotoxin werden in 20 ml Aqua bidest. gelöst. Für eine 300 g schwere Ratte ergeben sich so 15 Gamma oder 0,06 ml Stammlösung. Mit Aqua bidest. wurde die Stammlösung auf 1 ml verdünnt (genaue Dosis richtete sich nach Gewicht) und 5 Ratten i.p. gespritzt. 4 Ratten überlebten 24 Stunden. Ein signifikanter Unterschied gegenüber den Nulltieren ließ sich weder für Lactat, noch für Pyruvat, noch für den Quotienten nachweisen (35a - II).

I: Nulltiere (α in mg% angegeben)

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	16	17	16
α	29,5	1,63	19,4
σ	± 8	$\pm 0,42$	± 8

II: 50 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 24 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	4	4	4
α	39,8	1,59	30,1
σ	$\pm 14,5$	$\pm 0,86$	$\pm 15,2$

- 3.112) 500 Gamma Endotoxin/ kg Ratte; Versuch
über 24 Stunden

Lösungsansatz:

5 mg Endotoxin wurden in 20 ml Aqua bi-dest. gelöst. Für eine 300 g schwere Ratte ergeben sich so 150 Gamma oder 0,6 ml Stammlösung. Für das entsprechende Gewicht wurde jetzt die entsprechende Menge Stammlösung errechnet. Mit Aqua bi-dest. wurde die Stammlösung auf 1 ml verdünnt und 5 Ratten i.p. gespritzt. Ein signifikanter Unterschied gegenüber den Nulltieren ließ sich weder für Lactat, noch für Pyruvat, noch für den Quotienten nachweisen (36a - III).

- 3.113) 5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch
über 6 Stunden

Lösungsansatz:

15 mg gelöst in 10 ml Aqua bidest. Eine Ratte von 300 g bekommt genau 1,5 mg oder 1 ml Stammlösung. Die Dosis wurde jetzt je nach Gewicht festgelegt. Die jeweilige Menge wurde 5 Ratten i.p. gespritzt.

Nach 6 Stunden war die erste Ratte tot, daher wurden die restlichen 4 zu diesem Zeitpunkt entblutet.

Ein signifikanter Unterschied gegenüber den Nulltieren ließ sich weder für Lactat, noch für Pyruvat, noch für den Quotienten nachweisen (34a - IV).

III: 500 Gamma Endotoxin/ kg Ratte;

Versuch über 24 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	5	5	5
α	27,1	1,85	14,7
σ	$\pm 15,2$	$\pm 0,92$	$\pm 3,3$

IV: 5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 6 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	4	4	4
α	30,3	1,46	22,2
σ	± 11	$\pm 0,64$	$\pm 8,8$

3.114) 5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch
über 8 Stunden

Lösungsansatz:

30 mg Endotoxin in 20 ml Aqua bidest. gelöst. Eine Ratte von genau 300 g bekommt 1,5 mg oder 1 ml Stammlösung. Die Dosis wurde nach dem Gewicht festgelegt. 10 Ratten wurden i.p. gespritzt. Zwei Ratten waren nach 5 Stunden tot, 5 Ratten wurden nach 8 Stunden in einem finalen Stadium getötet und entblutet, 3 Ratten überlebten 96 Stunden. Lactat zeigte einen signifikanten Anstieg, Pyruvat zumindest eine deutliche Tendenz in Beziehung zu den Nulltieren (0 = Nulltiere) (37a - V).

Q-Lactat

$$\begin{aligned} 5000 (8)/0 &= 5,2 \\ Z &= 3,5 \end{aligned}$$

Q-Pyruvat

$$\begin{aligned} 5000 (8)/0 &= 3,04 \\ Z &= 3,45 \end{aligned}$$

3.115) 10000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch
über 5 Stunden

Lösungsansatz:

33 mg Endotoxin wurden in 11 ml Aqua bidest. gelöst. Eine Ratte von 300 g bekam 3 mg oder 1 ml Stammlösung. Die einzelnen Dosen wurden je nach Gewicht errechnet. 10 Ratten wurden mit dieser Dosis gespritzt. Nach 5 Stunden waren bereits 3 Ratten tot, die restlichen befanden sich in einem finalen Stadium. Sie wurden entblutet. Es konnte nur noch von 5 Ratten genügend Blut gewonnen werden.

Sowohl Lactat als auch der Lactat/Pyruvatquotient zeigten einen signifikanten Anstieg im Vergleich zu den Nulltieren.

(37a - VI).

Q Lactat

$$\begin{aligned} 10000/0 &= 3,6 \\ Z &= 3,5 \end{aligned}$$

Q Lac/Py.

$$\begin{aligned} 10000/0 &= 6,5 \\ Z &= 3,5 \end{aligned}$$

V: 5000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte;

Versuch über 8 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	5	5	5
$\bar{x}$	61,7	2,36	25,9
$\bar{y}$	+ 20	+ 0,62	+ 5,2

VI: 10.000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 5 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	5	5	5
$\bar{x}$	54,3	1,08	49,5
$\bar{y}$	+ 24,2	+ 0,26	+ 12,8

3.12) Wiederholte Endotoxingabe

In dieser Versuchsreihe wurden die Tiere nach 0, 3, 6 und 9 Stunden gespritzt. 3 Stunden nach der letzten Injektion wurden sie entblutet.

3.121) 3 x 2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 9 Stunden

Lösungsansatz:

24 mg Endotoxin wurden in 40 ml Aqua bi-dist. gelöst. Eine Ratte von 300 g bekam pro Injektion genau 600 Gamma oder 1 ml Stammlösung. Die einzelnen Dosen wurden je nach Gewicht berechnet. Von den 12 behandelten Ratten überlebten 11 die 9 Stunden.

Ein signifikanter Unterschied gegenüber den Nulltieren wurde weder für Lactat, noch für Pyruvat, noch für den Quotienten nachgewiesen (38a - VII).

3.122) 3 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 9 Stunden

Lösungsansatz:

36 mg Endotoxin wurden in 40 ml Aqua bi-dist. gelöst. Eine Ratte von 300 g Gewicht bekam pro Injektion 900 Gamma oder 1 ml Stammlösung. Die einzelnen Dosen wurden jeweils nach Gewicht berechnet. Von den 10 behandelten Ratten überlebten 9, von 8 konnte Blut gewonnen werden. Auffällig war bei der Mehrzahl der Ratten die fast schiefergraue, feinhöckrige Leber und das ikterische Serum. Wenn es die Blutmenge erlaubte, wurde Bilirubin bestimmt; es lag dann um 1,5 mg%.

Lactat und Pyruvat zeigten einen deutli-

VII. 3 x 2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 9 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	11	11	11
$\bar{x}$	37,8	2,08	17,7
$\bar{v}$	± 24	$\pm 0,73$	$\pm 7,6$

VIII. 3 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 9 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	8	8	8
$\bar{x}$	71,2	2,90	24,7
$\bar{v}$	$\pm 21,2$	$\pm 0,63$	$\pm 7,4$

chen signifikanten Anstieg gegenüber den Nulltieren (38 a - VIII).

Q-Lactat

$$\begin{aligned} 3 \times 3000 / 0 &= 7 \\ Z &= 3,4 \end{aligned}$$

Q-Pyruvat

$$\begin{aligned} 3 \times 3000 / 0 &= 5,86 \\ Z &= 3,4 \end{aligned}$$

3.123) 4 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 12 Stunden

Lösungsansatz:

90 mg wurden in 100 ml Aqua bidest. gelöst. Eine Ratte von 300 g Gewicht bekam pro Injektion 900 Gamma oder 1 ml Stammlösung. Die einzelnen Dosen wurden je nach Gewicht berechnet. Von den 22 gespritzten Ratten überlebten 12 die Frist von 12 Stunden. Wieder zeigte sich ein signifikanter Anstieg von Lactat und Pyruvat im Vergleich zu den Nulltieren (39a - IX).

Q-Lactat

$$\begin{aligned} 4 \times 3000 / 0 &= 3,44 \\ Z &= 3,77 \end{aligned}$$

Q-Pyruvat

$$\begin{aligned} 4 \times 3000 / 0 &= 4,33 \\ Z &= 3,37 \end{aligned}$$

Zusammenfassung der Ergebnisse von 3.11 und 3.12)

Die einmalige Gabe von Endotoxin führt bis zu einer Dosierung von 5000 γ pro kg innerhalb von 6 Stunden zu keinem Anstieg von Lactat und Pyruvat im Blut. Nach Gabe von 5000 γ pro kg und einem Zeitintervall von 8 Stunden steigt Lactat signifikant an. Ebenso finden sich nach 10000 γ pro kg Endotoxin erhebliche Lactatzunahmen mit gleich-

IX. 4 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 12 Stunden

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	11	10	9
$\bar{x}$	48,7	22,41	20,8
$\bar{\sigma}$	$\pm 17,4$	$\pm 0,48$	$\pm 4,8$

zeitigem Anstieg des Lactatpyruvatquotienten. Wiederholte Endotoxingaben bewirken bei $3 \times 2000 \gamma$ pro kg eine mäßige, aber nicht statistisch zu sichernde Lactatvermehrung, erst ab $3 \times 3000 \gamma$ pro kg Endotoxin steigen Lactat und Pyruvat stark an (40 a - 1).

3.2) ENZYME

=====

Zu Beginn dieser Versuche wurden wieder Normalwerte in Leber und Muskulatur bestimmt, mit denen die späteren Ergebnisse verglichen wurden (40 a - X, 40 b - XI).

Da bei den Metaboliten die ersten signifikanten Veränderungen erst nach einer Endotoxindosis von 5000 Gamma/kg Ratte und einer Versuchsdauer von 8 Stunden auftraten, wurde auf die Enzymmessung bei kleineren Dosen und kürzerer Versuchsdauer verzichtet.

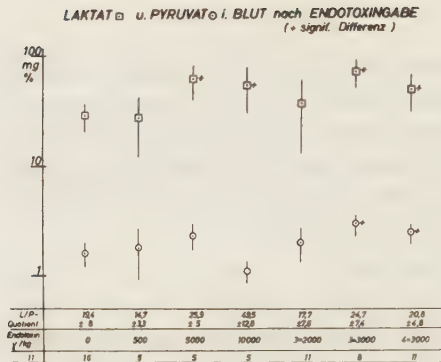
Gemessen wurden die Aktivitäten pro Gramm Frischgewicht und pro Gramm Extraktprotein.

3.21) 5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 8 Stunden

Die Transaminasen zeigen in dieser Versuchsserie bei den Messungen in der Leber eine fallende Tendenz, ohne signifikanten Unterschied. In der Muskulatur ist diese Tendenz weniger zu beobachten. Die LDH in der Leber und Muskulatur steigt geringfügig an.

Die restlichen Enzyme bleiben in Leber und Muskulatur unverändert (40 b - XII, 40 c - XIII).

Abb. 1



Lactat- und Pyruvat im Blut nach Endotoxin-
gabe (+ signifikante Differenz)

Ergebnisse der Enzymmessungen

Normalwerte in der Leber

x.	Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
	GOT	6	94,94	951
			102,39	200,23
	GPT	6	13,05	117,5
			32,11	49,6
	ALD	6	7,51	75
			12,35	14,2
	LDH	6	273,11	2710
			101,09	1097
	MDH	6	392,69	3952
			87,21	1187
	GLDH	6	36,28	362,9
			2,92	63,8
	SDH	6	14,79	147,4
			1,01	22,6

XI. Normwerte im Muskel

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	6	34,86	766
		4,64	67,6
GPT	6	1,60	35,5
		0,35	8,1
ALD	6	101,00	2234
		15,80	353,5
LDH	6	476,82	10777
		34,02	1606
MDH	6	154,03	3430
		12,62	323,2
GLDH	6	0,51	11,2
		0,063	0,73
SDH	6	0,13	3,3
		0,025	0,27

XII. 5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 8 Stunden

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	8	77,74	653
		5,06	55
GPT	8	10,44	86,0
		3,53	22,3
ALD	8	6,94	58,7
		0,74	4
LDH	8	304,52	2550
		66,52	387
MDH	8	365,12	3075
		58,96	353
GLDH	8	28,60	240
		6,54	43
SDH	8	14,91	126
		3,17	28

XIII. 5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 8 Stunden / Muskelwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	8	28,67	598
		6,66	141
GPT	8	1,55	32,2
		0,21	4,4
ALD	8	96,20	1992
		12,20	155
LDH	8	558,66	11635
		76,93	1626
MDH	8	153,77	3183
		35,84	635
GLDH	8	0,46	9,5
		0,099	2,4
SDH	8	0,12	2,5
		0,032	0,66

3.22) 3 x 2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch
über 9 Stunden

Die im Versuch mit 5000 Gamma festgestellten Veränderungen für GOT, GPT und LDH in Leber und Muskulatur sind in dieser Untersuchungsreihe nicht mehr festzustellen. Die Werte von GOT, GPT und LDH entsprechen wieder den Ausgangswerten. Lediglich bei der SDH ist jetzt in der Leber eine fallende Tendenz zu beobachten (41 a - XIV, 41 a - XV).

3.23) 3 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch
über 9 Stunden

Die Transaminasen in der Leber lassen jetzt wieder eine fallende Tendenz erkennen, wobei die GPT dominiert. MDH und LDH bleiben in der Leber uncharakteristisch verändert. Die im vorherigen Versuch beobachtete Tendenz der SDH ist auch hier wieder zu beobachten. Geringfügig gesenkt wurde auch die GLDH. Die Veränderungen in der Muskulatur bleiben insgesamt uncharakteristisch (41 b - XVI, 41 b - XVII).

3.24) 4 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch
über 12 Stunden

Die fallende Tendenz von GOT und besonders GPT in der Leber ist auch jetzt wieder zu beobachten; dasselbe gilt für SDH und GLDH in der Leber.

Die Enzyme in der Muskulatur sind wiederum uncharakteristisch verändert (41 c - XVIII, 41 c - XIX).

XIV. 3 x 2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte

Versuch über 9 Stunden / Leberwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	6	93,53 13,26	840 146
GPT	6	16,97 3,99	152 34,1
ALD	6	6,99 0,79	62,3 12,3
LDH	6	272,70 60,72	2524 843
MDH	6	391,88 58,72	3538 698
GLDH	6	34,74 6,29	309,8 51,5
SDH	6	12,85 1,53	117 28

XV. 3 x 2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 9 Stunden / Muskelwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	6	34,79 8,10	730 199
GPT	6	3,20 0,50	66,9 12,1
ALD	6	98,48 18,85	2030 226
LDH	6	546,41 3959	11434 1354
MDH	6	165,14 25,89	3469 699
GLDH	6	0,52 0,13	10,8 2,98
SDH	6	0,11 0,041	2,4 1,06

XVI. 3 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 9 Stunden / Leberwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	11	79,11	694
		15,64	188
GPT	11	9,17	78,4
		3,14	23,4
ALD	11	7,36	63,5
		1,16	11,8
LDH	11	278,74	2420
		48,29	457
MDH	11	369,10	3183
		80,82	633
GLDH	11	29,00	255
		6,47	72,4
SDH	11	11,86	102,3
		2,70	25,2

XVII. 3 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 9 Stunden / Muskelwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	11	31,26	764
		7,17	67
GPT	11	1,45	35,8
		0,34	12,1
ALD	11	89,52	2180
		13,30	418
LDH	11	504,90	12280
		80,31	2541
MDH	11	152,60	3740
		28,50	955
GLDH	11	0,44	10,5
		0,084	2,5
SDH	11	0,149	3,6
		0,063	1,5

XVIII. 4 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

Versuch über 12 Stunden / Leberwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	8	76,21	710
		16,53	183
GPT	8	8,79	81,3
		2,83	27,1
ALD	8	7,24	67
		0,70	8,5
LDH	8	330,27	3085
		73,11	877
MDH	8	352,99	3257
		75,55	646
GLDH	8	30,18	279
		7,36	64
SDH	8	12,24	112,4
		2,44	17,2

XIX. 4 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte;

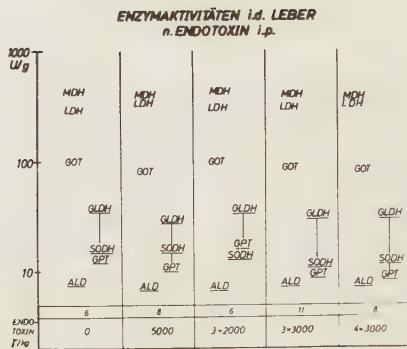
Versuch über 12 Stunden / Muskelwerte

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	8	28,94	616
		3,70	66
GPT	8	1,56	33,3
		0,27	6,5
ALD	8	98,10	2090
		30,28	194
LDH	8	543,51	11600
		77,87	1602
MDH	8	169,68	3609
		32,55	604
GLDH	8	0,49	10,2
		0,09	1,7
SDH	8	0,121	2,5
		0,032	0,6

Zusammenfassung der Ergebnisse von 3.2)

Die Enzymaktivitäten in der Leber zeigen nach Endotoxingabe für die LDH, MDH, GOT und ALD keine wesentlichen Veränderungen. GPT und weniger SDH lassen eine fallende Tendenz erkennen, ohne daß eine signifikante Differenz für die einzelnen Werte zu sichern ist. Dies gilt für sämtliche Endotoxingaben (längstes Versuchsintervall 12 Stunden!). Ähnlich bleiben in der Muskulatur die Aktivitäten der bestimmten Enzyme unverändert. Allerdings ist hier auch keine Tendenz, wie für die GPT bei der Leber, zu erkennen (42 a - 2).

Abb. 2



Muster der Enzymaktivitäten in der Leber nach intraperitonealer Endotoxingabe

4) Ileusergebnisse =====

4.1) Metabolite

Bei diesen Versuchen war es notwendig, neben den Normalwerten auch noch sogenannte Kontrollwerte (Definition unter 2.22) zu ermitteln, die aber zeigten, daß Operationsstress und Narkose allein keine Änderungen im Bereich der Metabolite hervorrufen (43 a - XX).

Die untersuchten Tiere wurden nach 24, 36 und 48 Stunden getötet. In jeder dieser 3 Versuchsgruppen fehlte ein signifikanter Lactatanstieg, wenn auch eine steigende Tendenz zu beobachten war. Die Pyruvatänderungen waren noch diskreter. Dadurch zeigte auch der Lactat/Pyruvatquotient keine verwertbaren Veränderungen (43a - XXI, 43a - XXII, 43a - XXIII, 43b - 3).

Auch wenn man die Ergebnisse der Tiere, die nach Anlegen des Strangulationsileus eine hämorrhagische Infarzierung des Darmes bekamen, mit denen der Tiere ohne eine solche tiefgreifende Veränderung verglich, ließ sich kein signifikanter Unterschied feststellen (43b - XXIV, 43b - XXV).

Die Enzymmessungen erfolgten bei den Ileustieren lediglich nach 48 Stunden, denn die Untersuchungen an den Metaboliten hatten ja gezeigt, daß bei noch kürzerer Versuchsdauer keine deutlichen Veränderungen zu erwarten sind.

Nach 48 Stunden zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg der LDH in der Leber (Q LDH

Ileus 48 Std./O = 4,1
Z = 3,8),

XX. Kontrolltiere (α in mg% angegeben)

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	21	20	20
α	30,9	1,73	19,0
σ	$\pm 16,1$	$\pm 0,83$	$\pm 10,5$

XXI. Ileustiere 24 Std. (α in mg% angegeben)

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	21	16	15
α	38,2	1,67	23,7
σ	$\pm 19,6$	$\pm 0,71$	± 12

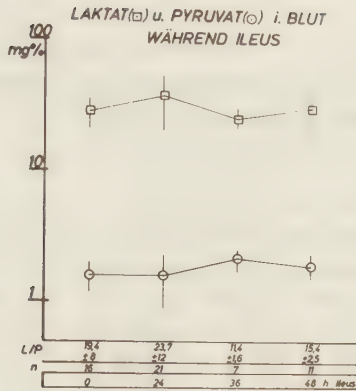
XXII. Ileustiere 36 Std.

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	7	6	6
α	25,5	2,22	11,4
σ	$\pm 5,4$	$\pm 0,56$	$\pm 1,6$

XXIII. Ileustiere 48 Std.

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	11	9	9
α	30,1	1,91	15,4
σ	$\pm 6,9$	$\pm 0,47$	$\pm 2,5$

Abb.3



Lactat und Pyruvat im Blut während
Strangulationsileus über 48 Stunden

XXIV. Ileustiere (24 und 36 Std.) mit hämorrhagischer Infarzierung des Darmes

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	14	10	10
$\bar{x}$	38,7	1,83	21,7
$\bar{\sigma}$	$\pm 19,7$	$\pm 0,76$	$\pm 15,4$

XXV. Ileustiere (24 und 36 Std.) ohne hämorrhagische Infarzierung des Darmes

	Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat
n	14	11	11
$\bar{x}$	34,2	1,77	19,2
$\bar{\sigma}$	± 17	$\pm 0,73$	$\pm 8,7$

während die LDH der Muskulatur fast unverändert blieb. Für die GPT der Leber war wiederum eine fallende Tendenz, aber kein signifikanter Abfall nachweisbar (44a - XXVI, 44a - XXVII, 44b - 4).

Das Extraktprotein in der Leber als Bezugsgröße für die Enzymaktivitäten fällt bei den Ileustieren im Gegensatz zu den Endotoxintieren ab (44 b - XXVIII, 44 c - 5). Das Extraktprotein in der Muskulatur bleibt nahezu konstant (44 c - XXIX).

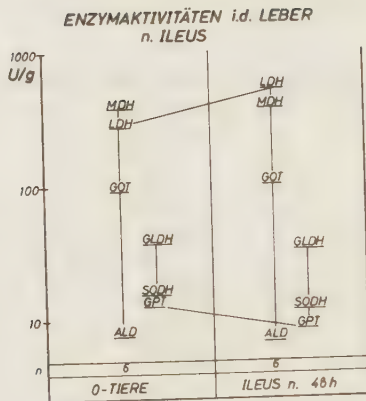
XXVI. Leberwerte des 48 Std. Ileus

Enzym	Zahl(n)	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	6	98,58 13,42	1338 583
GPT	6	8,565 1,81	119,3 62,7
ALD	6	6,87 0,76	90,5 28,7
LDH	6	500,96 89,61	6665 2498
MDH	6	363,60 61,32	4724 1402
GLDH	6	32,72 9,81	431,2 165,6
SDH	6	11,47 1,75	155 62,8

XXVII. Muskelwerte des 48 Std. Ileus

Enzym	(n)Zahl	U/g Frischgew.	U/g Extraktprot.
GOT	6	32,07 4,33	752 200,5
GPT	6	1,66 0,26	38,4 8,2
ALD	6	94,14 21,14	2157 334
LDH	6	517,63 51,27	11961 1920
MDH	6	143,93 15,17	3370 847
GLDH	6	0,475 0,104	11,2 3,5
SDH	6	0,162 0,063	3,7 1,1

Abb. 4



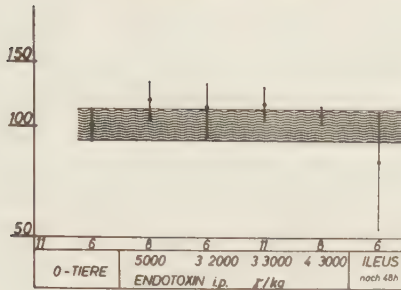
Muster der Enzymaktivitäten in der
Leber nach 48-stündigem Strangula-
tionsileus

XXVIII. Extraktprotein der Leber

	n	α	σ
Normwerte	6	102	2,4
Ileus 48 Std.	6	83,3	28,1
100 Gamma/kg 8 Std.	8	119	14,5
2000 Gamma/kg 9 Std.	6	113,3	19
3000 Gamma/kg 9 Std.	11	116,2	12,7
4000 Gamma/kg 12 Std.	8	108,8	5,1

EXTRAKTPROTEIN der LEBER
n. ENDOTOXINGABE u. ILEUS

Abb.5



Extraktprotein in der Leber nach intra-
peritonealer Endotoxingabe und
nach Ileus (Angaben in mg/g Leber)

XXIX. Extraktprotein des Muskels

	n	α	$\bar{v}$
Normwerte	6	45,6	4,6
Ileus 48 Std.	6	44,6	6,9
5000 Gamma/kg 8 Std.	8	48,2	4,3
3 x 2000 Gamma/kg 9 Std.	6	48,0	3,9
3 x 3000 Gamma/kg 9 Std.	11	42,3	6,3
4 x 3000 Gamma/kg 12 Std.	8	47,4	2

5) DISKUSSION
=====

5.1) Begründung der Versuchsanordnung:

Ziel der Untersuchungen war es, Auswirkungen des Endotoxins gramnegativer Keime auf verschiedene Kriterien des Stoffwechsels in der Leber und Muskulatur den beim Ileus erhobenen Befunden (STAIB und HERFARTH, 1966 (87)) gegenüberzustellen. Bei Strangulationen im unteren Ileum hatten sich charakteristische Umstellungen einzelner Stoffwechselwege in der Leber gefunden, die in der Muskulatur nicht nachgewiesen werden konnten. Die intraperitoneale Endotoxingabe wurde gewählt, weil sie bei Ratten die einfachste Applikationsart darstellt. Dasselbe gilt für den terminalen Strangulationsileus des Dünndarms, der in der von uns angewandten Art gut reproduzierbare Ergebnisse liefert.

5.2) Gegenüberstellung der Ergebnisse der Endotoxintiere mit denen der Literatur:

5.21) Kohlehydratstoffwechsel:

Störungen des Kohlehydratstoffwechsels unter Endotoxineinwirkung sind bekannt und der Tod, besonders der kleinen Versuchstiere, steht mit einer Kohlehydratstoffwechselstörung im Zusammenhang. KUN zeigte nach intraperitonealer Gabe von Salmonellenendotoxin in Rattenleber eine Glykogensynthesehemmung aus Glukose und bei Kaninchen eine Hemmung der Glykogenbildung aus Glukose und Pyruvat (71). KUN und ABOOD konnten 1949 diese Ergebnisse noch etwas mehr differenzieren. Sie stellten nach Endotoxingabe einen Anstieg von Milch-

säure und Brenztraubensäure und einen Abfall von Glykogen und Phosphopyruvat fest. Sie sahen die Kohlehydratstoffwechselstörung in einer Hemmung der Pyruvatoxydation (72). Nach den Ergebnissen von SANFORD und Mitarbeitern sind Hypoglykämie und Entleerung der Leberglykogendepots die konstantesten Veränderungen nach Bakterienendotoxininjektion (83).

WEIDANZ und SHAFFER stellten bei ihren Untersuchungen über die Wirkung von *Salmonella thyposa* bei Hühnerembryos fest, daß Endotoxin gramnegativer Keime eine Glykolyse stimuliert, ähnlich wie Insulin (98). BERRY berichtete 1959 über einen Glykogenabfall in der Leber und Muskulatur und über Blutzuckerabfall nach subletalen Endotoxindosen (15). GÜING fand hingegen bis zum Tod erhöhte Blutzuckerwerte. Aber bei hungernden Kaninchen und nach Leberschädigung (46) fand auch GÜING nach toxischen Endotoxindosen einen Blutzuckerabfall (54).

WEIL (1964) beschrieb im Tierversuch wie beim Mensch eine Milchsäureerhöhung parallel zunehmend mit der ungünstigen Prognose eines toxämischen Vergiftungsbildes (99).

Die eigenen Ergebnisse zeigen ganz typisch, daß mit steigender Endotoxindosierung Milchsäure und später auch Brenztraubensäure signifikant ansteigen. Nur bei der Aufteilung der Endotoxingabe in mehrere kleine Dosen (3×2000 Gamma/kg) bleibt der erwartete Milchsäureanstieg aus. Hier muß eine steigende Toleranz diskutiert werden (33, 91). Auch behält die Leber ihre Entgiftungsfähigkeit bei der Gabe von kleineren Dosen im Intervall. Bei höheren Dosierungen im Intervall kommt es jedoch zu dem gleichen Anstieg wie bei einmaliger Gabe von Endotoxin.

5.22) Enzymaustritt:

Als Zeichen der Minderung der Enzymproteinaktivität wurde eine Abnahme der Tryptophanpyrrolase in der Leber nachgewiesen. Hemmstoffe der Enzymproteinbildung erhöhen die Endotoxin-toxizität (16, 17). Man beobachtete in der Leber während der Endotoxinvergiftung einen Abfall der nicht proteingebundenen Sulfhydrylgruppen (meist Glutathion), die als CO-Faktoren der Phosphoglyzerindehydrogenase dienen (66).

JANOFF und ZWEIFACH (1963) fanden, daß nach Endotoxingabe ein Austritt lysosomaler Hydrolasen ins Blut erfolgt (65). Aus Leukozytenlysosomen werden beta-Glukuronidase und eine saure Phosphatase freigesetzt (14).

WEIL beobachtete neben Milchsäureerhöhung einen Anstieg der Transaminasen und Dehydrogenasen im Blut (99). Da die Leber die entscheidende Entgiftungsfunktion des Endotoxins einnimmt (86), sind nach Endotoxingabe in der Leber an und für sich die wesentlichsten Enzymaktivitätsveränderungen zu fordern. Nach CORWIN und FARRAR besitzen die Mitochondrien der Leber ein ATP-abhängiges entgiftendes System (40).

CHEDID und Mitarbeiter machten mit Cr⁵¹-markiertem Endotoxin Versuche und konnten so Aussagen machen, wie lange Endotoxin im Kreislauf verweilt, in welchen Organen es ausgeschieden wird und in welchen Organen es entgiftet wird (32). 60 % des Endotoxins beim Normaltier und 90 % beim toleranten Tier finden sich kurze Zeit nach der intravenösen Gabe in der Leber und Milz. Nur 1 % findet sich in der Muskulatur (55).

Die bei den eigenen Versuchen beobachtete Abnahme der Leberspezifischen Enzyme, die als enzymatischer Überbau für spezielle Leistungen des Organs angesehen werden und bei Leberzellschädigung absinken, weist auf diesen Mechanismus der Entgiftungsfunktion der Leber hin. Obwohl diese Änderungen statistisch nicht zu sichern waren, zeigten sie jedoch eine deutliche Tendenz an. Auch erlaubt die kurze Versuchsdauer von maximal 12 Stunden nicht wesentliche Umstellungen der Enzymmuster. Die Enzyme des EMDEN-MEYER-HOFF-Weges und des Citronensäurezyklus bleiben unbeeinträchtigt. Erwartungsgemäß fehlen Enzymaktivitätsveränderungen in der Muskulatur, in der sich nach Untersuchung mit radioaktivem Material nur 1 % der verabfolgten Endotoxine wiederfinden (55).

5.3) Gegenüberstellung der Ergebnisse der Ileustiere mit denen der Literatur:

5.31) Kohlenhydratstoffwechsel:

HERFARTH und STAIB beobachteten bei Ileustieren eine Konstanz des Lactat- und Pyruvatspiegels (87). HERFARTH und SCHÄFER fanden 1964 weder nach Okklusion noch nach Strangulation sichere Veränderungen. Der Redox-Quotient blieb immer konstant (62).

Diese Ergebnisse stimmen mit den eigenen Untersuchungen überein. Sie lassen sich damit erklären, daß die beim Ileus anfallende Endotoxinmenge bei den Versuchen noch von der Leber - ähnlich wie bei der Versuchsgruppe mit kleinen Endotoxindosen im Intervall (3 x 2000 Gamma/kg) - entgiftet wird. Erst prä-

terminal bei Dekompensation dieses Mechanismus würde dann, wie bereits früher beobachtet, eine Überschußlactatbildung auftreten.

5.32) Enzymaustritt:

LAUFMAN und Mitarbeiter (1962) weisen auf eine LDH-Erhöhung bei einem Teil der Ileustiere hin (73). HERFARTH und SCHÄFER fanden 1964 bei tiefem Strangulationsileus deutliche Veränderungen im Enzymverteilungsmuster der Leber mit einem Anstieg der LDH, der MDH und geringer der GOT. Muskelveränderungen fanden sich damals nicht (62).

Die eigenen Untersuchungen bestätigten mit dem signifikanten Anstieg der LDH und der Absinktendenz der GPT, GLDH und SDH diese Ergebnisse.

5.4) Gegenüberstellung der Endotoxinergebnisse und der Ileusergebnisse

Werden die Befunde nach Endotoxingabe denen bei den Ileustieren gegenübergestellt, so findet sich ähnlich, als Zeichen der Störung des Leberstoffwechsels, ein Abfall der leberspezifischen Enzyme. Als zusätzliche Veränderung läßt sich ein statistisch zu sichernder Anstieg der LDH in der Leber nachweisen. Der auffällige Befund der Konstanz der LDH mit deutlicher Lactatzunahme bei den Endotoxintieren und umgekehrt des statistisch signifikanten LDH-Anstiegs bei konstantem Lactat bei den Ileusversuchen widerspricht sich nicht. Hier spielen sicherlich Zeitfaktoren eine Rolle:

Bei den Ileusversuchen über 48 Stunden kann

die Erhöhung der LDH als charakteristisch für die Zunahme der Glykolyserate infolge der Leberläsion angenommen werden, entsprechend den Befunden von FITCH und Mitarbeitern (50), die zeigten, daß sich hinter einem regelrechten Lactat-Pyruvatquotienten größere Umsätze der beiden Substrate verbergen können. Während des Kurzzeitversuches mit Endotoxin bleibt die Erhöhung der LDH in dem knappen Zeitintervall trotz höheren Lactatangebotes aus.

5.5) Klinische Folgerung

Hieraus ergibt sich die Folgerung, daß beim tiefen Ileus in Übereinstimmung mit den klinischen Beobachtungen eine länger dauernde Therapie doch trotz kunstgerechter Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution zu einer Verschlimmerung des Krankheitsbildes mit evtl. Irreversibilität führt. Die toxische Leberschädigung mit Austritt zytoplasmatischer und mitochondrialer Enzyme wäre neben den lokalen Veränderungen (Darmwandläsion, wie sie durch Adrenalin und Leukozytenlysosomen schon nach nicht toxischen Endotoxingaben beobachtet wird (93)) als Ursache anzunehmen.

6) ZUSAMMENFASSUNG

=====

- Zu 1: Die intraperitoneale Endotoxingabe (E.coli) führt zu einem signifikant zu sichernden Anstieg der Milchsäure und Brenztraubensäure im Blut. Der Redox-Quotient blieb dementsprechend unverändert.
- Zu 2: Bei den vorliegenden Versuchen wurde nach intraperitonealer Endotoxingabe eine Abnahme der Aktivität der leberspezifischen Enzyme beobachtet. Sie deutet auf eine Leberzellschädigung hin. Die Enzyme des EMDEN-MEYERHOFF-Weges und des Citronensäurezyklus bleiben unverändert. Enzymveränderungen in der Muskulatur blieben erwartungsgemäß aus.
- Zu 3: Vergleicht man die Ergebnisse nach intraperitonealer Endotoxingabe mit denen nach experimentellem, tiefem Strangulationsileus des Dünndarms, so findet sich in beiden Versuchsreihen als Zeichen der Störung des Leberstoffwechsels ein Abfall leberspezifischer Enzyme. In beiden Versuchsreihen fehlen Enzymaktivitätsveränderungen in der Muskulatur. Die Lactat- und Pyruvatveränderungen nach Endotoxingabe wurden bei den Ileustieren nicht gefunden.
- Zu 4: In Übereinstimmung mit den klinischen Beobachtungen dürfte eine länger dau-

ernde konservative Therapie trotz Flüssigkeits- und Elektrolytersatzes zu einer Irreversibilität des Krankheitsbildes führen, da mit der Zeit toxische Leberschädigungen und lokale Veränderungen im Sinne einer Darmwandläsion eintreten.

1. AIRD, I.

Morbid influences in intestinal obstruction and strangulation.

Ann. Surg. 114, 385, 1941

2. ALBERTI, V.

Contributo allo studio della patologia della occlusione intestinale acute sperimentale.

Policlinico Sez. chir. 48, 357, 1941

3. ALTURA, B.M., THAW, C., HERSHEY, S.G.

Role of bacterial endotoxins in intestinal ischemic (SMA) shock.

Experientia 22, 786, 1966

4. BARNETT, W.O.

Strangulation obstruction: Pathophysiology and management.

Mississippi Doctor, 36, 72, 1958-59

5. BARNETT, W.O., CLIPPINGER, D.L.

Comparison of the efficacy of antibiotics in open and closed loop strangulation obstruction.

Am. Surgeon, 25, 238, 1959

6. BARNETT, W.O.

Lethal factors in intestinal obstruction.

Surg. Gynec. & Obst., 109, 769, 1959

7. BARNETT, W.O.

Strangulated intestinal obstruction.

Arch. Surg. 79, 864, 1959

8. BARNETT, W.O.

Experimental strangulated intestinal
obstruction: A review.

Gastroenterology, 39, 34, 1960

9. BARNETT, W.O.

Strangulation obstruction: Experi-
mental findings with clinical impli-
cations.

Am. Surgeon, 27, 230, 1961

10. BERGMAYER, H.-U., BERNT, E.

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse", von H.U. Bergmeyer, Verlag Che-
mie Weinheim/Bergstraße, 1962, S. 837 ff.

11. BERGMAYER, H.-U., BERNT, E.

Glutamat-Pyruvat-Transaminase
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962,
S. 846 ff.

12. BERGMAYER, H.-U., BERNT, E., HESS, B.

Lactat-Dehydrogenase
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962,
S. 736 ff.

13. BERGMAYER, H.-U., BERNT, E.

Malat-Dehydrogenase
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962,
S. 757 ff.

14. BERNHEIMER, A.W., SCHWARTZ, L.L.
Lysosomal disruption by bacterial toxins.
J. Bact. 87, 1100, 1964
15. BERRY, L. J., SMYTHE, D.S.
Effects of bacterial endotoxins in metabolism. II. Protein-carbohydrate balance following cortisone, Inhibition of intestinal absorption and adrenal response.
J. exp. Med. 110, 407, 1959
16. BERRY, L.J., SMYTHE, D.S.
Effects of bacterial endotoxins in metabolism VI. Role of tryptophan-pyrrolase in response of mice to endotoxins.
J. exp. Med. 118, 587, 1963
17. BERRY, L.J., SMYTHE, D.S.
Effects of bacterial endotoxins in metabolism VII. Enzyme induction and cortisone protection.
J. exp. Med. 120, 721, 1964
18. BESSER, E.L.
Cause of death in cases of mechanical intestinal obstruction. Consideration of certain confused issues an review of recent literature.
Arch. Surg. 41, 970, 1940
19. VAN BEUREN, F., jr.
Letal factors in acute ileus
Ann. Surg. 75, 423, 1922

20. BIEBL, M.

Die Autointoxikation durch Phenol-Indolkörper. I. Neue Systematik der bisherigen Kenntnisse über Phenol-Indolkörper.

II. Eigene Experimente speziell über die Bedeutung der Phenol-Indolkörper bei Ileus und für die Ätiologie der genieren Hypertonie.

Dtsch. Zschr. Chir. 218, 135, 1929

21. BIOCHEMICA "Boehringer" Mannheim

Brenztraubensäure-Test, Enzymatische Bestimmung der Pyruvat-Konzentration im Blut (UV-Test mit DPNH)

C.F. Boehringer & Söhne, GmbH, Mannheim.

22. BIOCHEMICA "Boehringer" Mannheim

Milchsäure-Test, Enzymatische Bestimmung der L-Lactat-Konzentration in Blut und Serum (UV-Test mit DPN)

C.F. Boehringer & Söhne, GmbH, Mannheim.

23. BLAIN, A.

Penicillin in experimental intestinal obstruction: Summary of observations with reference to their clinical application.

Surg. Gynec. & Obst., 84, 753, 1947

24. BLÜMEL, G., GOTTLOB, R.

Die pathophysiologische Bedeutung der Endotoxine beim Ileus.

Münch. M. Wschr., 108, H. 41, 1966

25. BORNSIDE, G.H., COHN, I., jr.
Clostridial toxins in strangulation
intestinal obstruction in the rabbit.
Ann. Surg. 152, 330, 1960
26. BORNSIDE, G.H., COHN, I., jr.
Intestinal bacteriology of closed
loop, strangulated obstruction in
dogs.
Gastroenterology, 41, 245, 1961
27. BRUNS, F.H., BERGMAYER, H.-U.
Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" aus H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962
S. 724 ff.
28. BÜCHER, Th., CZOK, R., LAMPRECHT, W.,
LATZKOW, E.
Pyruvat
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim- Bergstraße, 1962,
S. 253 ff.
29. BUCHHOLZ, W., LANGE, H.
Ileus und Darmflora: Kann für die In-
toxikation beim Ileus die abnorme Ent-
wicklung der Darmflora verantwortlich
gemacht werden?
Münch. med. Wschr., 74, 233, 1927
30. BURGET, G.E., MARTZLOFF, K., SUCKOW, G.,
THORNTON, R.C.B.
The closed intestinal loop. I. Rela-
tion of intraloop (jejunum) pressure to
the clinical condition of the animal
Arch. Surg. 21, 829, 1930

31. BURGET, G.E., MARTZLOFF, K.H., THORNTON, R.C.B.
SUCKOW, G.R.

The closed intestinal loop. II. Observations on dogs with jejunal and ileal loops and chemical analyses of the blood.

Arch. Int. Med., 47, 593, 1931

32. CHEDID, I., SKARMES, R.G., PARANT, M.
Characterization of Cr⁵¹-Labeled endotoxin and its identification in plasma and urine after parenteral administration

5. exp. Med. 117, 561, 1963

33. CLARK, W.C., VANDERHOOF, G.T., BORISON, H.L.
Emetic effect of purified staphylococcal enterotoxin in cats.

Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 111,
205, 1962

34. COHN, I. jr.

Strangulation obstruction - evaluation of bacterial factors.

Bull. Soc. intern. Chir., 15, 73,
1956

35. COHN, I., jr.

Strangulation obstruction, closed loop studies.

Ann. Surg. 153, 94, 1961

36. COHN, I., jr., ATIK, M.

Strangulation obstruction: closed loop studies

Ann. Surg. 153, 94, 1961

37. COHN, I., jr., FLOYD, C.E., DRESDEN, C.F.,
BORNSIDE, G.H.
Strangulation obstruction in germ-
free animals.
Ann. Surg. 156, 692, 1962
38. COHN, I., jr.
The "toxin" in closed-loop strangu-
lation obstruction.
Bulletin New York Acad. Med., 40,
863, 1964
39. CONNORS, F.J., WILLIAMS, J.A.
Chemical changes in the blood in
intestinal obstruction.
Proc. Soc. exp. Med. (N.Y.) 20, 357,
1923
40. CORWIN, L.M., FARRAR, W.E.
Nature of the endotoxin inactivating
principle in guinea-pig liver.
J.Bact. 87, 832, 1964
41. DAVIS, D.M., STONE, H.B.
Studies on the development of tox-
icity in intestinal secretion.
J. exper. Med., 26, 687, 1917
42. DINES, G.L., GEIS, A.F.
Experimentally produced closed loop
intestinal obstruction in dogs.
Surgery, 45, 751, 1959
43. DRAGSTEDT, C.A., DRAGSTEDT, L.R., CHASE, S.C.
Antigenic property of closed inte-
stinal loop fluid
Am. J. Physiol., 46, 366, 1918

44. DRAGSTEDT, L.R., MOORHEAD, J.J., BURCKY, F.W.
Intestinal obstruction: Experimental
study of intoxication in closed in-
testinal loops.
J. Exper. Med., 25, 421, 1917
45. DRAGSTEDT, L.R., DRAGSTEDT, C.A., Mc CLINTOCK,
J.T., CHASE, C.S.
Intestinal obstruction. II. Study of the
factors involved in the production and
absorption of toxic materials from the
intestine.
J. Exper. Med., 30, 109, 1919
46. FARRAR, jr. W.E., WATSON, J.G.
Hypoglycemia following endotoxin ad-
ministration in animals with liver
damage.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 115, 833,
1964
47. FINE, J.
Cause of death in acute intestinal
obstruction.
Surg. Gynec. & Obst., 110, 628, 1960
48. FINE, J.
8. Hahnemann Symposium über kardio-
vasculäre und pulmonale Probleme vor
und nach chirurgischen Eingriffen.
III. Schock und Elektrolytstörungen,
Ätiologie und Einteilung des Schocks.
Amer. J. Cardiol., 12, 587, 1963
49. FINE, J., MINTON, R.
Mechanism of action of bacterial endo-
toxin.
Nature, 210, 97, 1966

50. FITCH, W.M., HILL, R., CHAIKOFF, J.C.
Enzymes in the liver during nutrition
J. biol. chem. 234, 2811, 1959
51. FOCK, G.
Experimental studies of intestinal obstruction in rats, with special reference to changes of the liver.
Acta chir. scand. Suppl. 292, 1, 1962
52. FUCHSIG, P., MARESCH, E.
Zur Pathologie und Klinik des Ileus
Wien. klin. Wschr., 1947, 430 u. 445
53. GERLACH, U.
Sorbit-Dehydrogenase
aus "Methoden der enzymatischen Analyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962
S. 761 ff.
54. GÖING, H.
Experimentelle Untersuchungen über Gifte der Ruhrbakterien. VIII. Über die Bedeutung von Stoffwechsel- und Kreislauffunktionen für den Endotoxintod verschiedener Spezies.
Arb. Paul-Ehrlich-Institut 57, 80, 1962a
55. GÖING, H., KAISER, P.
Aufbau und Wirkungsweise bakterieller Endotoxine.
Ergebn. mikrobiol. Immunitätsforschung und exp. Therapie, 39, 243, 1966

56. HÄBLER, C.

Molekularpathologische und experimentelle Untersuchungen über die Todesursache beim Dünndarmverschluß II.
Z. exper. Med. 62, 1928

57. HALSTED, W.S.

Circular suture of the intestine.
Experimental study.
Am. J. M. Sc., 94, 436, 1887

58. HAMMAN, J.

The pathologie of intestinal strangulation.
A report of ninety-four cases.
S. Afric. Med.J. 1950, 1070

59. HARPER, W.H., BLAIN, A.

III. Effect of penicillin in intestinal obstruction: Preliminary report on closed loop studies.
Bull. Johns Hopkins Hosp., 76, 221, 1945

60. HELLNER, H., NISSEN, R., VOSSCHULTE, K.

Lehrbuch der Chirurgie, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, S. 674 ff. 1964

61. HENNING, N., BAUMANN, W.

"Darmverschluß (Ileus)"
Hdb. Inn. Med. Bd. 3/II, 1953
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg

62. HERFARTH, Ch., SCHÄFER, H.

Experimentelle Untersuchungen einzelner Fermente und Substrate beim Ileus. Bedeutung für Prognose und Diagnose.
Langenbecks Archiv für klin. Chirurgie, Band 308, Kongreßbericht 1964, S. 739 ff

63. HOHORST, H.J., KREUTZ, F.H., BÜCHER, Th.
Über Metabolitgehalte und Metabolit-
konzentrationen in der Leber der Rat-
te.
Biochem. Z., 332, 18, 1959
64. HOHORST, H.J.
L-(+)-Lactat-Bestimmung mit LDH und
DPNH
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962,
S. 266, ff.
65. JANOFF, A., ZWEIFACH, E.W.
Effect of endotoxin tolerance, corti-
sone and thorotrast on release of en-
zymes from subcellular particles of
mouse liver.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 114,
695, 1963
66. JEFFRIES, C.D.
Liver nonprotein sulfhydryl of endo-
toxin-treated med.
5. Bact. 86, 1358, 1963
67. KOLLE, W., HELLER, O., de MISTRAL, V.
Die Wertbestimmung des Dysenterieser-
ums
Dtsch. Med. Wschr. 34, 809, 1908
68. KRAUS, R., DOERR, R.
Die Wertbemessung des Dysenterieser-
ums.
Dtsch. Med. Wschr. 1908, II, 1178 ff.

69. KRAUS, R.

Über die Beziehungen der sogenannten
Endotoxine zu den Toxinen.

Zbl. Bakter. 42, 13, 1908

70. KÜHLMAYER, R.

Neuere Gesichtspunkte bei der Behand-
lung des Darmverschlusses

Wien. klin. Wschr. 75, 21, 1963

71. KUN, E.

Effects of bacterial endotoxins on gly-
cogen synthesis

Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 68, 496,
1948

72. KUN, E., ABOOD, L.G.

Mechanism of inhibition of glycogen
synthesis by endotoxins of salmonella
aertrycke and type I meningococcus.

Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 71, 362,
1949

73. LAUFMAN, H., NORA, P.F.

Physiological problems underlying in-
testinal strangulation obstruction.
Symposium.

Surg. Clin. N. Amer. 42, 219, 1962

74. LIGHT, R.A.

Nature of the toxic material in closed
loop intestinal obstruction; indenti-
fication of lysozyme. I. Obstructed loop
contents.

Surgery, 30, 195, 1951

75. MANSBERGER, A.R., jr., COWLEY, R.A., BESSMAN, S.P., BUXTON, R.W.
The origin and utilization of ammonia in strangulation of the small bowel.
Ann. Surg. 150, 880, 1959
76. MATHIEU, F.J., WEILBACHER, D.A., HENEGHAN, J.B. BORNSIDE, G.H., COHN, I., jr.
Strangulation obstruction and survival of germ-free dogs.
Surg. Forum 14, 372, 1963
77. McCLURE, R.D.
Experimental study of intestinal obstruction.
J.A.M.A., 49, 1003, 1907
78. MIKOSCH, H.
Intrazelluläre Elektrolytveränderungen nach intraperitonealer Endotoxingabe.
Dissertation Marburg, 1968
79. MURPHY, F.T., BROOKS, B.
Intestinal obstruction: Experimental study of the causes of symptoms and death.
Arch. Int. Med., 15, 392, 1915
80. NEMIR, P., HAWTHORNE, H.R., COHN, I., DRABKIN, D.L.
The cause of death in strangulation obstruction: An experimental study. I. Clinical course, chemical, bacteriologic and spectrophotometric studies.
Ann. Surg., 130, 857, 1949

81. O'NEILL, J.A., jr., FORSTER, J.H.
The influence of low molecular dextran
on lethal endotoxemia
Amer. Surg., 30, 612, 1964
82. PFEIFFER, R.
Über die Beziehungen der sogenannten
Endotoxine zu den Toxinen
Zbl. Bakter. 42, 1, 1908
83. SANFORD, J.B., BARNETT, J.A., GOTT, S.
A mechanism of glycogenolytic action
of bacterial endotoxin
J. exp. Med. 112, 97, 1960
84. SCHMIDT, E.
Glutamat-Dehydrogenase
aus "Methoden der enzymatischen Ana-
lyse" von H.-U. Bergmeyer, Verlag
Chemie, Weinheim/Bergstraße, 1962
S. 752, ff.
85. SMITH, G.A., PERRY, J.F. jr., YONEHIRO, E.G.
Mechanical intestinal obstruction. A
study of 1.252 cases.
Surg. 100, 651, 1955
86. SMITH, E.E., RUTENBERG, S.H., RUTENBERG, A.M.,
FINE, J.
Detoxification of endotoxin by splenic
extracts.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 113, 781,
1963
87. STAIB, I., HERFARTH, Ch.
Zur Pathophysiologie des mechanischen
Ileus II.
Brun's Beitr. klin. Chir. 213, 107, 1966

88. STELZNER, F.
Die Bedeutung der Autoallergie beim
Ileus.
Zbl. Chir. 74, 997, 1949
89. STONE, H.B., BERNHEIM, B.M., WHIPPLE, G.H.
Intestinal obstruction: A study of
the toxic factors.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 23, 159, 1912
90. STONE, H.B.
Toxic agents developed in the course
of acute intestinal obstruction and
their action.
Surg. Gynec. & Obst., 32, 415, 1921
91. STUART, A.E., BIOZZ, G., STIFFEL, L.,
HALPERN, B.N., MOUTON, D.
The stimulation and depression of re-
ticulo-endothelial phagocytic function
by simple Lipids
Brit. J. exp. Path. 41, 559, 1960
92. TANTURI, C.A., ANDERSON, R.E., CANEPA, J.F.
Lecithinase and hyaluronidase in ex-
perimental intestinal obstruction.
Surg. Gynec. & Obst., 90, 171, 1950
93. THOMAS, L.
Possible role of Leukocyte granules
in the Shwartzman and Arthus reactions.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 115, 235,
1964
94. URBASCHEK, B., VERSTEYL, R., GÜTTE, D.
Histaminverstärkende Wirkung von Endo-
toxinen aus verschiedenen gramnegativen
Keimen.
Klin. Wschr. 43, 1012, 1966

95. USHIDA, H.

Experimentelle Untersuchungen über
den akuten Darmverschluß. I. Mittei-
lungen über die Resorption des Dar-
mes bei akutem Darmverschluß.
Arch. f. jap. Chir. Bd. 5, H. 2, 219,
1928

96. WAHREN, H.

Intoxication in intestinal strangu-
lation: Experimental study.
Acta. chir. scand., 78, 121, 1936

97. WANGENSTEEN, O.H., LOUCKS, M.

Studies on intestinal obstruction.
II. Resorption of histamin from the
obstructed bowel.
Arch. Surg. 16, 1089, 1928

98. WEIDANZ, W.P., SHAFFER, M.P.

Hypoglycemia in chick embryos infec-
ted with *S. typhosa* via the allantoic
cavity.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 111, 655,
1962

99. WEIL, N.H.

The animal model and the human pa-
tient in bacterial shock
Proc. of Symposium "Bacterial Endoto-
xins" New Brunswick, N.Y., 1964, P. 184

100. WHIPPLE, G.H., COOKE, J.V., STEARNS, T.

Protease intoxications and injury of
body protein. II. Metabolism of dogs
with duodenal obstruction and isola-
ted loops of intestine.
J. exper. Med. 25, 479, 1917

101. WILLIAMS, B.W.

Hunterian lecture on the importance
of toxæmia due to anaerobic organism
in acute intestinal obstruction and
peritonitis.

Lancet, 212, 907, 1927

102. ZAJCEV, G.P.

Einige Fragen zum Problem des akuten
Ileus.

(Ref. aus: Zentralorgan für die gesam-
te Chirurgie, Bd. 140, S. 57. (1955)).

LEBENS LAUF

Am 17. Mai 1941 wurde ich in Marburg an der Lahn als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Franz Brobmann und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Schmidt, geboren. Ich wurde nach evangelischem Bekenntnis getauft und erhielt die Namen Günther Friedrich. Im September 1947 wurde ich in die Nord-schule Marburg/Lahn eingeschult und besuchte diese Schule wegen der Umstellung des Schulbeginns auf Ostern 4 1/2 Jahre. Die Aufnahmeprüfung am humanistischen Gymnasium Philippinum in Marburg bestand ich im Frühjahr 1952. Diese Schule besuchte ich von Sexta bis Oberprima und bestand dort am 28. Februar 1961 die Reifeprüfung.

Anschließend verbrachte ich in der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg die ersten 4 Wochen meines Krankenpflegedienstes, die zweiten 4 Wochen leistete ich in den Semesterferien zwischen dem ersten und dem zweiten Semester ebenfalls in der Medizinischen Universitäts-Klinik ab.

Zum Sommersemester 1961 immatrikulierte ich mich an der Marburger Philipps-Universität und studierte dort bis zum Staatsexamen. Am 27. 4. 1962 bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 5. 10. 1963 die Ärztliche Vorprüfung.

Die Zeit der Famulatur verbrachte ich 1964 in Marburg in der Klinik St. Elisabeth auf einer chirurgischen Station, im Kreiskrankenhaus Frankenberg 1964 ebenfalls auf einer chirurgischen Station und 1965 in Wiesbaden auf einer internen Abteilung.

Nach dem elften Semester meldete ich mich zum Staatsexamen und bestand dieses am 7. März 1967.

Im April 1967 begann ich meine Medizinalassistentenzeit in der Chirurgischen Universitäts-Klinik in Marburg. Im Moment arbeite ich im Kreiskrankenhaus Frankenberg auf einer internen Abteilung.

Ich bin verheiratet und habe eine Tochter.

DANK:

Herrn Doz. Dr. med. Ch. HERFARTH bin ich für die Überlassung des Themas und für wertvolle Anregungen bei der Durchführung der Arbeit zu Dank verpflichtet.

Frl. Achelis möchte ich für ihre tatkräftige Hilfe bei den Enzymbestimmungen meinen Dank aussprechen.

INHALTSVERZEICHNIS:

=====

1.	Einleitung	1
1.1	Allgemeine Einleitung	1
1.2	Fragestellung	2
1.3	Literaturrückblick	2
2.	Methodik	12
2.1	Tiermaterial	12
2.2	Versuchsanordnung	13
2.21	Nulltiere	13
2.22	Kontrolltiere	14
2.23	Endotoxintiere	15
2.24	Ileustiere	17
2.3	Meßtechnik und Bestimmung der Fehlerbreite	18
2.31	Meßtechnik Lactat	18
2.32	Meßtechnik Pyruvat	21
2.33	Bestimmung der Fehlerbreite	24
2.331	Lactat	24
2.332	Pyruvat	24
2.34	Methodik der Enzymmessung	25
2.341	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	25
2.342	Glutamat-Pyruvat-Transaminase	26
2.343	Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase	27
2.344	Malat-Dehydrogenase	28
2.345	Lactat-Dehydrogenase	29
2.346	Glutamat-Dehydrogenase	30
2.347	Sorbit-Dehydrogenase	31
2.348	Homogenisieren und Herstellen von Biuretreagens	32
2.349	Berechnung und Bestimmung der Fehlerbreite	32
2.4	Auswertung (Statistik)	34
3.	Endotoxinergebnisse	35
3.1	Metabolite	35
3.11	Einmalige Endotoxingabe	35
3.111	50 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 24 Stunden	35
3.112	500 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 24 Stunden	36
3.113	5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 6 Stunden	36
3.114	5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 8 Stunden	37
3.115	10000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 5 Stunden	37

3.12	Wiederholte Endotoxingabe	38
3.121	3 x 2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 9 Std.	38
3.122	3 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 9 Std.	38
3.123	4 x 3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 12 Std.	39
3.2	Enzyme	40
3.21	5000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 8 Stunden	40
3.22	3x2000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 9 Std.	41
3.23	3x3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 9 Std.	41
3.24	4x3000 Gamma Endotoxin/kg Ratte; Versuch über 12 Std.	41
4.	Ileusergebnisse	43
4.1	Metabolite	43
5.	Diskussion	45
5.1	Begründung der Versuchsanordnung	45
5.2	Gegenüberstellung der Ergebnisse der Endotoxintiere mit denen der Literatur	45
5.21	Kohlehydratstoffwechsel	45
5.22	Enzymaustritt	45
5.3	Gegenüberstellung der Ergebnisse der Ileustiere mit denen der Literatur	48
5.31	Kohlehydratstoffwechsel	48
5.32	Enzymaustritt	49
5.4	Gegenüberstellung der Endotoxinergebnisse und der Ileusergebnisse	49
5.5	Klinische Folgerung	50
6.	Zusammenfassung	51
7.	Literaturverzeichnis	53

VERZEICHNIS DER TABELLEN:

=====

I.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum bei Normaltieren (alpha in mg%)	35 a
II.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 50 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 24 Stunden (alpha in mg%)	35 a
III.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 500 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 24 Stunden (alpha in mg%)	36 a
IV.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 5000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 6 Stunden (alpha in mg%)	36 a
V.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 5000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 8 Stunden (alpha in mg%)	37 a
VI.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 10.000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 5 Stunden (alpha in mg%)	37 a
VII.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 3 x 2000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 9 Stunden (alpha in mg%)	38 a
VIII.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 3 x 3000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 9 Stunden (alpha in mg%)	38 a
IX.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum nach Gabe von 4 x 3000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 12 Stunden (alpha in mg%)	39 a
X.	Enzymaktivitäten in der Leber bei Normaltieren	40 a
XI.	Enzymaktivitäten in der Muskulatur bei Normaltieren	40 b
XII.	Enzymaktivitäten in der Leber nach Gabe von 5000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 8 Stunden	40 b
XIII.	Enzymaktivitäten in der Muskulatur nach Gabe von 5000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 8 Stunden	40 c
XIV.	Enzymaktivitäten in der Leber nach Gabe von 3 x 2000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 9 Stunden	41 a
XV.	Enzymaktivitäten in der Muskulatur nach Gabe von 3 x 2000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 9 Stunden	41 a

XVI.	Enzymaktivitäten in der Leber nach Gabe von 3 x 3000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 9 Stunden	41 b
XVII.	Enzymaktivitäten in der Muskulatur nach Gabe von 3 x 3000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 9 Stunden	41 b
XVIII.	Enzymaktivitäten in der Leber nach Gabe von 4 x 3000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 12 Stunden	41 c
XIX.	Enzymaktivitäten in der Muskulatur nach Gabe von 4 x 3000 Gamma Endotoxin pro kg Ratte; Versuchsdauer 12 Stunden	41 c
XX.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum von Kontrolltieren (alpha in mg%)	43 a
XXI.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum von Ileustieren, Versuchsdauer 24 Stunden (alpha in mg%)	43 a
XXII.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum von Ileustieren, Versuchsdauer 36 Stunden (alpha in mg%)	43 a
XXIII.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum von Ileustieren, Versuchsdauer 48 Stunden (alpha in mg%)	43 a
XXIV.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum von Ileustieren mit haemorrhagischer Infarzierung des Darmes (alpha in mg%)	43 b
XXV.	Lactat- und Pyruvatverhalten im Serum von Ileustieren ohne haemorrhagische Infarzierung des Darmes (alpha in mg%)	43 b
XXVI.	Enzymaktivitäten in der Leber bei Ileustieren, Versuchsdauer 48 Stunden.	44 a
XXVII.	Enzymaktivitäten in der Muskulatur bei Ileustieren, Versuchsdauer 48 Stunden	44 a
XXVIII.	Extraktprotein in der Leber (alpha in mg%)	44 b
XXIX.	Extraktprotein in der Muskulatur (alpha in mg%)	44 c

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN:

=====

- | | | |
|----|---|------|
| 1. | Lactat- und Pyruvat im Blut nach Endotoxingabe (+ signifikante Differenz) | 40 a |
| 2. | Muster der Enzymaktivitäten in der Leber nach intraperitonealer Endotoxingabe | 42 a |
| 3. | Lactat- und Pyruvat im Blut während Strangulationsileus über 48 Stunden | 43 b |
| 4. | Muster der Enzymaktivitäten in der Leber nach 48-stündigem Strangulationsileus. | 44 b |
| 5. | Extraktprotein in der Leber nach intraperitonealer Endotoxingabe und nach Ileus (Angabe in mg/g Leber). | 44 c |

VERZEICHNIS DER BENUTZTEN ABKÜRZUNGEN:

ALD	Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase
ATP	Adenosintriphosphat
Biuret	Biuretreagens
BTS	Brenztraubensäure
DAP	Dihydroxyacetonphosphat
DPN ⁺	Diphosphopyridinnucleotid
DPNH	reduziertes Diphosphopyridinnucleotid
E	Extinktion
FDP	Fructose-1,6-diphosphat
GAP	D-Glycerinaldehyd-3-phosphat
GDH	Glycerin-1-phosphat-dehydrogenase
GLDH	L-Glutamat-dehydrogenase
	L-Glutamat: NAD-Oxidoreductase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
	L-Aspartat: 2-Oxoglutarat-Aminotransferase
	L-Aspartat-Aminotransferase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
	L-Alanin: 2-Oxoglutarat-Aminotransferase
	Alanin-Aminotransferase
Homo	Homogenat
KGS	alpha-Ketoglutarsäure
K ₂ HPO ₄	Dikaliumhydrogenphosphat
LDH	Lactat-Dehydrogenase
MDH	Malat-Dehydrogenase
NaCl	Natriumchlorid
NAD ⁺	Nicotinamid-adenin-dinucleotid (früher DPN ⁺)
NADH	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (früher DPNH)
NH ₄ ⁺	Ammonium-Ion
OA	Oxalacetat
P-P	Phosphatpuffer
Praep.vol.	Praeparatvolumen
SDH	Sorbit-Dehydrogenase
Testvol.	Testvolumen
TIM	Triosephosphat-Isomerase
Trap	Triäthanolamin-hydrochlorid
Trilon	Äthylendiamin-tetraacetat (EDTA) als Dinatriumsalz: EDTA-Na ₂ H ₂ x H ₂ O z.B. Titriplex III (Fa. Merck)

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Marburg:

Amon, Beckmann, Berendes, Bommer, Braun-Falco, Brück, Buchholz, Bücher, Dimroth, Dölle, Drawert, Exner, Ganz, Gedigk, Golenhofen, Hamm, Hartmann, Hensel, Heuser, Hildebrandt, Hohorst, Jacob, Lang, Linneweh, Lübbers, Mahr, Mann, Martini, Marx, Mattes, du Mesnil de Rochemont, Neubauer, Nissing, Nocke, Petry, Rodeck, Rohen, Salfeld, Sauer, Schiff, Schleyer, Schmid, Schultze, Schwaiger, Seidel, Siegert, Spiegelberg, Stender, Straub, Streicher, Walcher, Wendt, Würterle.

